



Влияние различных видов аутопробиотиков на микробиоту и поведение при коррекции экспериментального дисбиоза кишечника

Ермоленко Е.И., Новикова Н.С., Котылева М.П., Мацулевич А.В., Карасева А.Б., Забельникова А.М., Абдурасулова И.Н.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт Экспериментальной Медицины»,
(ул. Академика Павлова, д. 126, Санкт-Петербург, 197022, Россия)

Для цитирования: Ермоленко Е.И., Новикова Н.С., Котылева М.П., Мацулевич А.В., Карасева А.Б., Забельникова А.М., Абдурасулова И.Н. Влияние различных видов аутопробиотиков на микробиоту и поведение при коррекции экспериментального дисбиоза кишечника. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2025;(7): 147–161 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-239-7-147-161

✉ Для переписки:

Ермоленко

Елена Игоревна

lermolenko1

@yandex.ru

Ермоленко Елена Игоревна, зав. лабораторией биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна

Новикова Надежда Сергеевна, научный сотрудник; лаборатория биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна

Котылева Марина Петровна, лаборант-исследователь; лаборатория биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна

Карасева Алена Борисовна, научный сотрудник; лаборатория биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии им. академика РАН А.А. Тотоляна

Мацулевич Анна Викторовна, научный сотрудник; лаборатория нейробиологии интегративных функций мозга, физиологический отдел им. академика И.П. Павлова

Забельникова Александра Михайловна, лаборант-исследователь; Лаборатория нейробиологии интегративных функций мозга, физиологический отдел им. Академика И.П. Павлова

Абдурасулова Ирина Николаевна, зав. лабораторией нейробиологии интегративных функций мозга, физиологический отдел им. академика И.П. Павлова

Резюме

Изучено влияние аутопробиотиков, индигенных непатогенных энтерококков и полученного путем культивирования фекальных проб индигенного консорциума микробов (ИКМ), на восстановление кишечного микробиоценоза и поведенческие реакции у самцов крыс Вистар с дисбиозом кишечника, индуцированным введением ампициллина и метронидазола. Использованные условия культивирования фекальных проб приводили к увеличению в ИКМ доли лактобацилл и энтерококков. При анализе состояния животных, в частности при оценке двигательной и ориентировочно-исследовательской активности в teste «Открытое поле», а также результатов секвенирования фрагмента гена, кодирующего 16S rРНК после введения аутопробиотиков выявлены: более быстрое исчезновение диспепсии, снижение признаков тревожности и компенсаторные изменения состава микробиоты. Состав микробиома кишечника имел существенные различия в группах животных в зависимости от воздействия после введения антимикробных препаратов. Причем в группе, не получавшей аутопробиотики, наряду с более выраженным признаками дисбиоза были выявлены признаки спонтанного восстановления микробиоты. Максимальные изменения микробиоты кишечника и влияние на поведение животных оказывал ИКМ.

Выявленные феномены следует принимать во внимание при разработке методов комплексной терапии заболеваний, сопровождающихся развитием дисбиотических состояний, особенно с выраженным изменениями в функционировании ЦНС.

Ключевые слова: микробный консорциум, энтерококки, микробиом, ориентировочно-исследовательской активность, корреляционный анализ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: UOPPW





<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-239-7-147-161>

The effect of various types of autoprobiotics on the microbiota and behavior in correction of experimental intestinal dysbiosis

E.I. Ermolenko, N.S. Novikova, M.P. Kotyleva, A.V. Matsulevich, A.B. Karaseva, A.M. Zabelnikova, I.N. Abdurasulova

Institute of Experimental Medicine, (12b, Acad. Pavlov Str, St. Petersburg, 197376, Russia)

For citation: Ermolenko E.I., Novikova N.S., Kotyleva M.P., Matsulevich A.V., Karaseva A.B., Zabelnikova A.M., Abdurasulova I.N. The effect of various types of autoprobiotics on the microbiota and behavior in correction of experimental intestinal dysbiosis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(7): 147–161. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-239-7-147-161

✉ Corresponding author: Elena I. Ermolenko, Head of the Laboratory of Biomedical Microecology, A.A. Totolyan Department of Molecular Microbiology; ORCID: 0000-0002-2569-6660

Elena I. Ermolenko Nadezhda S. Novikova, Researcher; Laboratory of Biomedical Microecology, A.A. Totolyan Department of Molecular Microbiology; ORCID: 0000-0002-0030-9548

ermolenko1 Maryna P. Kotyleva, Research Assistant, Laboratory of Biomedical Microecology, A.A. Totolyan Department of Molecular Microbiology; ORCID: 0000-0003-1073-6508

Alena B. Karaseva, Researcher; Laboratory of Biomedical Microecology, A.A. Totolyan Department of Molecular Microbiology of the Russian Academy of Sciences; ORCID: 0000-0002-9570-4769

Anna V. Matsulevich, Researcher; Laboratory of Integrative Functions of the Brain, I.P. Pavlov Physiological Department; ORCID: 0000-0002-0030-9548

Aleksandra M. Zabelnikova, Research Assistant; Laboratory of Neurobiology of Integrative Functions of the Brain, I.P. Pavlov Physiological Department; ORCID: 0009-0002-2618-7670

Irina N. Abdurasulova, Head of the Laboratory of Neurobiology of Integrative Functions of the Brain, I.P. Pavlov Physiological Department; ORCID: 0000-0003-1010-6763

Summary

The effect of autoprobiotics, indigenous nonpathogenic enterococci, and the indigenous consortium of microbes (ICM) obtained from fecal samples on the restoration of intestinal microbiocenosis and behavioral responses in male Wistar rats with intestinal dysbiosis induced by ampicillin and metronidazole was studied. The conditions used for fecal sample cultivation led to an increase in the proportion of lactobacilli and enterococci in the ICM. When analyzing the condition of animals, in particular, when evaluating motor and exploratory activity in the “open field” test, as well as the results of 16S rRNA sequencing after administration of autoprobiotics, the following were revealed: faster disappearance of dyspepsia, decreased signs of anxiety, and compensatory changes in the composition of the microbiota. The composition of the intestinal microbiome had significant differences in the animal groups depending on exposure after administration of antimicrobial drugs. Moreover, in the group that did not receive autoprobiotics, along with more pronounced signs of dysbiosis, signs of self-healing were revealed. The maximum changes in the intestinal microbiota and the effect on animal behavior were exerted by ICM.

The revealed phenomena should be taken into account when developing methods of complex therapy of diseases accompanied by the development of dysbiotic conditions, especially with pronounced changes in the functioning of the central nervous system.

Keywords: microbial consortium, enterococci, microbiome, tentative research activity, correlation analysis

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Введение

За последние годы наши знания о кишечной микробиоте значительно расширились. Было показано, что дисфункции кишечного микробиома вызывают изменения периферических и центральных регуляторных процессов, что в конечном итоге приводит к функциональному дефициту в работе мозга, в том

числе в поведении. Показано, что бактерии, входящие в состав микробиоты желудочно-кишечного тракта, продуцируя различные нейроактивные метаболиты: нейротрансмиттеры и их предшественники (гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), серотонин, норадреналин, дофамин, ацетилхолин),

гормоны и другие соединения (глютамат, аспартат, таурин, глицин, короткоцепочечные жирные кислоты, малые РНК, нейропептиды) способны оказывать влияние на развитие и функционирование периферической (ПНС) и центральной нервной систем (ЦНС) [1, 2]. Под руководством В.Н. Даниленко проанализировано наличие и распределение генов, которые контролируют синтез ферментов, участвующих в продукции нейроактивных соединений, в 147 метагеномах кишечника здоровых людей из базы данных Human Microbiome Project и искусственно собранном из 508 бактериальных геномов синтетическом метагеноме. По результатам анализа геномных и метагеномных данных от здоровых людей было отобрано семь родов бактерий (*Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Escherichia* и *Lactobacillus*) содержащих в геноме наибольшее число исследуемых генов ферментов, участвующих в продукции нейроактивных соединений. Авторы предполагают, что отобранные "коровьи" рода и ферменты формируют метагеномную сигнатуру, отражающую нейрометаболический потенциал микробиоты кишечника человека в норме [3]. По составу микробиома и наличию в нем ключевых генов, участвующих в продукции нейроактивных веществ, можно предположить возможность патологии нервной системы при полногеномном исследовании микробиома кишечника.

Также известно, что бактерии отличаются между собой по участию во влиянии на нейроэндокринные процессы. Это было выяснено при поиске корреляции между таксонами и изменениями в функционировании ПНС и ЦНС. Во многом это связано с видовой или штаммоспецифической способностью микроорганизмов к продукции отдельных нейромедиаторов. Например, *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. могут продуцировать тормозной нейромедиатор ГАМК, *Escherichia* spp., *Bacillus* spp. и *Saccharomyces* spp. – норадреналин, *Escherichia* spp. и *Enterococcus* spp. – серотонин, *Lactobacillus* spp. – ацетилхолин [4–7].

Пробиотические средства, влияющие на функции ЦНС все чаще справедливо называются таргетными пробиотиками или в данном случае «психобиотиками» [8]. Достаточно большое количество работ, посвященных исследованию влияния пробиотических штаммов–психобиотиков на животных и людей, позволяют установить некоторые механизмы взаимодействия на уровне оси «микробиота-кишечник-эндокринная и нервная системы». Например, пробиотический штамм *L. rhamnosus* при введении мышам BALB/C в состоянии стресса вызывал активацию ГАМКергических рецепторов в различных отделах мозга, восстанавливал уровень кортикостерона в крови, что приводило к положительной динамике в поведенческих тестах [4]. Штамм *L. plantarum* PS128 способствовал увеличению содержания серотонина, дофамина в стриатуме мышей гнотобионтов C57BL/6JNarl, уменьшая тем самым симптомы тревожности в поведенческих тестах [9]. Пробиотики на основе *L. helveticus* r0052 и *B. longum* R0175 могут ослабить тревогу и депрессию у крыс [10, 11]. На здоровых

крысах Вистар выявлены особенности действия различных пробиотических штаммов на поведенческие реакции. *L. plantarum* 8R-A3 и *Enterococcus faecium* LX снижали двигательную активность. *Escherichia coli* M17 повышал тревожность у животных. *E. faecium* L3 не оказывал негативного влияния на поведение крыс, и даже стимулировал физическую выносливость [12].

Сравнительно небольшое количество публикаций отражают результаты исследования психомодулирующего действия пробиотических лактобацилл и бифидобактерий на людей. Тем не менее, уже сейчас установлено, что некоторые пробиотики могут приводить к улучшению настроения и снижению тревожности при исследовании здоровых людей-добровольцев [13]. Нами после введения пробиотических и аутопробиотических энтерококков отмечено снижение симптомов тревожности и депрессии, увеличение работоспособности у людей с диагнозами синдром раздраженного кишечника [14] и метаболический синдром [15].

Использование аутопробиотиков существенно отличается от пробиотической терапии. Аутопробиотики – индигенные штаммы полезных бактерий, облигатные представители микробиоты кишечника человека (лактобациллы, бифидобактерии, энтерококки, эшерихии и другие микроорганизмы), выделенные из организма хозяина и введенные в него после культивирования *in vitro* до количеств, сопоставимых с дозами пробиотических бактерий. Применение аутопробиотиков в отличие от пробиотических средств как правило не вызывает побочных эффектов и отличается более продолжительным сохранением эффектов и после прекращения курса терапии [16, 17].

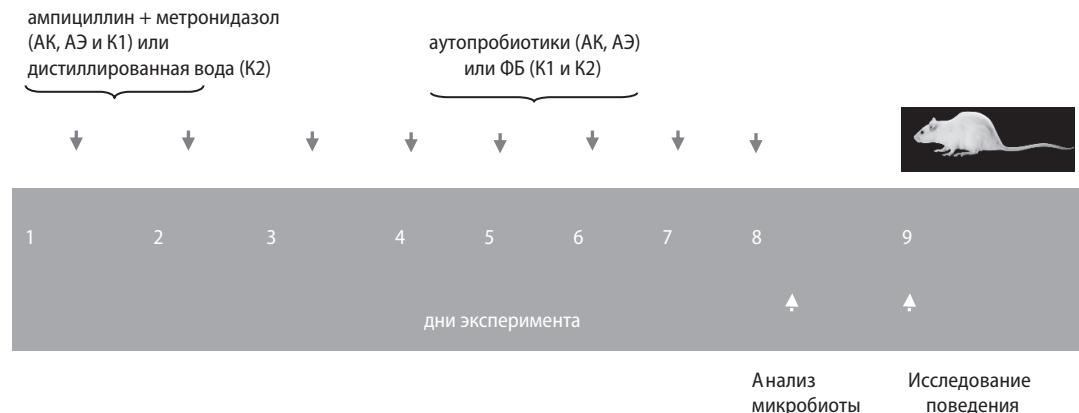
Ранее было проведено сравнительное исследование влияния различных по составу аутопробиотиков (моноштаммовых, смесей и консорциумов) на микробиоту и иммунитет на разработанной нами модели экспериментального дисбиоза, индуцированного ампициллином и метронидазолом [18]. Для данной модели характерны резкое снижение микробного разнообразия и чрезмерный рост условно-патогенных представителей энтеробактерий, главным образом протея и клебсиелл, а также признаки развивающегося на этом фоне кишечного воспаления [17]. Учитывая, выявленную противовоспалительную направленность аутопробиотических энтерококков и консорциума, они были выбраны как наиболее предпочтительные варианты для введения с целью коррекции нарушений микробиоценозов и воспалительных процессов. Ранее нами было выявлено позитивное влияние аутопробиотических и пробиотических энтерококков на поведение крыс при коррекции экспериментального дисбиоза [19].

Целью настоящего исследования явилась оценка терапевтического потенциала индигенных непатогенных энтерококков и индигенного консорциума микроорганизмов (ИКМ), оценивая их влияние на микробиоту кишечника и поведение при коррекции индуцированного антимикробными препаратами кишечного дисбиоза у крыс Вистар.

Таблица 1.
Характеристика
групп животных
Примечание:
ФБ-fosfатный
буфер, ИКМ – инди-
генные консорци-
умы микроорга-
низмов.

Группа (количество животных)	1–3 дни	4–8 дни	9 день
АЭ (n=16)	Ампициллин+ метронидазол	Аутопробиотические <i>Enterococcus faecium</i>	Исследование двигатель- ной и ориентировочно- исследовательской активности
АК (n=16)	Ампициллин+ метронидазол	Аутопробиотические консорциумы (ИКМ)	
К1 (n=16)	Ампициллин+ метронидазол	Фосфатный буфер	
К2 (n=16)	Дистиллированная вода	Фосфатный буфер	

Рисунок 1.
Схема экспери-
мента



Материалы и методы

Животные и их содержание

Эксперименты выполнены на 64 самцах крыс популяции Вистар (вес 200–250 г в возрасте 6–7 недель), полученных из питомника в Рапполово (Ленинградская область, РФ). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755). Все животные содержались при сходных условиях в отношении

температуры (18–22°C), влажности (50–60%) и освещения (12 часов), шума (до 85 дБ) а также рациона питания (комбикорм ПК-120-1, Россия). Эксперименты проведены в полном соответствии с Директивой Европейского Совета (The European Council Directive 86/609/EEC) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и одобрены Локальным этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ» (протокол № 3/23 от 20.09.2023).

Экспериментальная модель дисбиоза у крыс

Дисбиоз вызывали трехдневным внутрижелудочным введением 75 мг/кг ампициллина (ОАО «Органика», Россия) и метронидазола 50 мг/кг (ОАО «Ирбитский Химико-Фармацевтический завод», Россия), как это было описано ранее [18].

Особенности проведения эксперимента

Животные были разделены на 4 группы по 16 крыс в каждой, обозначенные как АЭ, АК, К1 и К2 в зависимости от схем внутрижелудочного введения antimикробных препаратов, аутопробиотиков, воды и фосфатного буфера (ФБ, 8,00 г/л NaCl, 0,20 г/л KCl, 1,44 г/л Na₂HPO₄, 0,24 г/л KН₂PO₄, pH 7,4), использующегося для стабилизации полученных суспензий индигенных микроорганизмов (табл. 1, рис. 1).

Антибиотические препараты вводили ежедневно в течение трех дней животным из первых трех групп (всем животным, кроме крыс из группы К2, получавшим первые три дня внутрижелудочно дистиллированную воду). После этого в течение 5 дней крысам из группы АЭ и АК, вводили индивидуально суспензию аутопробиотических энтерококков или индивидуально полученный после культивирования фекальных проб в тиогликоловой

среде индигенный консорциум микроорганизмов (ИКМ). Крысы из первой контрольной группы (К1) после индукции дисбиоза и группы К2 в течение 5 дней получали ФБ.

Для получения аутопробиотиков для каждого животного отдельно фекалии собирали за 10 дней до введения antimикробных препаратов. Все пробы фекалий отбирали сразу после дефекации в специальные криовиалы и в течение 1 часа высыпали на среды для получения аутопробиотиков или замораживали и хранили при -80°C для дальнейших исследований состава микробиоты. В первый и восьмой дни эксперимента собирали пробы фекалий для исследования микробиоты кишечника при помощи секвенирования фрагментов гена 16S rРНК.

В ходе эксперимента для контроля проявлений дисбиоза ежедневно отслеживали наличие

диспептических симптомов, измеряли вес животных и количество съеденной пищи. На 9 день

Получение аутопробиотиков

Аутопробиотики на основе энтерококков и консорциумов были получены из проб фекалий, взятых

Аутопробиотические энтерококки

Получение аутопробиотиков на основе энтерококков проводили в соответствии с методом, разработанным ранее [20] с модификациями.

Для выделения аутопробиотических энтерококков 0,5 г фекалий крыс помещали в 1 мл ФБ и гомогенизировали. Полученную суспензию фекалий высевали истощающим штрихом на селективную среду для энтерококков, содержащую азид натрия (Энтерококковый агар, Оболенск, РФ). После инкубации чашек Петри с засеянными бактериями при температуре 37°C в течение 24 часов отбирали типичные колонии *E. faecium* (с темнобордовым центром и розовым ободком) и отсевали на новую чашку Петри с плотной азидной средой с целью накопления чистой культуры. Для оценки молекулярно-генетических характеристик полученных штаммов проводилось выделение ДНК из колоний микроорганизмов с помощью набора для выделения ДНК «ДНК-ЭКСПРЕСС» (ООО Научно-производственная фирма ЛИТЕХ, РФ). На матрице полученной ДНК проводили ПЦР

Индигенный микробный консорциум

Для получения консорциума использовали метод разработанный ранее с некоторыми модификациями [21]. Для получения аутопробиотического консорциума 1 г фекалий, собранных у крыс до введения антимикробных препаратов смешивали с 1 мл ФБ. Полученную после перемешивания суспензию в объеме 100 мкл вносили в пробирки с резиновыми пробками объемом 15 мл, содержащие 10 мл тиогликолевой среды (Pronadisa Conda, Испания). Также в среду перед засевом материала добавляли 150 мкл глюкозы (раствор для внутривенного введения, 400 мг/мл, Renewal, РФ). Условия для роста анаэробных бактерий создавались при внесении материала вглубь среды и культивированием пробирок в анаэростате. Инкубирование проб проводили в течение трех суток при температуре 37°C. Полученные полимикробные суспензии были исследованы бактериологически – проводился посев

Исследование микробиома

ДНК из образцов выделяли с использованием набора QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit, Qiagen в соответствии с протоколом производителя. Аутопробиотики на основе полученных ИМК, а также образцы фекалий после терапии были исследованы при помощи секвенирования гена, кодирующего 16S рРНК с использованием ранее описанного подхода [17]. Анализ библиотек

исследования проводилось исследование поведенческих реакций.

до индукции дисбиоза для каждого животного отдельно.

с использованием праймеров, высокоспецифичных для вида *E. faecium*, а также предназначенных для определения наличия генетических детерминант патогенности (sprE, fsrB, asa1, cylA, cylM, efaA, Esp, gelE, van), кодирующих сериновую протеиназу, регулятор синтеза факторов вирулентности, поверхностные адгезины, цитолизины, желатиназу и устойчивость к ванкомицину. Детекцию результатов ПЦР осуществляли с помощью горизонтального электрофореза в 1% агарозном геле.

Чистые культуры отобранных непатогенных *E. faecium* культивировали в триптиказосовом бульоне (Gibco diagnostics, USA), центрифугировали и влажные осадки культур, содержащие 8,5 lg KOE/мл *E. faecium*, хранили при температуре -20 °C до введения животным в соответствии с дизайном эксперимента. В день введения аутопробиотика к осадкам добавляли 1 мл ФБ, повторно осаждали путем центрифугирования, сливали супернатанты и ресуспенсировали в том же объеме ФБ.

на солевом агар с маннитом (CONDA Pronadisa, Испания), агар хромогенный для уропатогенных бактерий (CONDA Pronadisa, Испания), агар Эндо-ГРМ (Оболенск, РФ) для исключения инфицирования проб или чрезмерного роста патогенных бактерий или грибов.

ИМК, в которых не были выделены патогенные микроорганизмы, центрифугировали на центрифуге MiniSpin (Eppendorf) в течение 15 мин при 3500 об/мин, удаляли супернатант, а осадок ресуспенсировали в стабилизирующем растворе (раствор 10% сахарозы и 1% желатина, pH 5,5) и хранили при температуре -20 °C до введения в соответствии с дизайном эксперимента. В день введения ИМК животным пробы осаждали на центрифуге MiniSpin (Eppendorf) в течение 10 мин при 3000 об/мин, трижды промывали ФБ и им же доводили смесь до исходного объема.

гипервариабельных областей V3 и V4 гена 16S рРНК проводился с использованием MiSeq (Illumina, США). ДНК выделяли из фекалий с помощью набора «ДНК Экспресс Био» (Алкор Био, Санкт-Петербург, Россия). Для подготовки библиотек использовался стандартный метод, рекомендованный Illumina, основанный на использовании двух раундов ПЦР.

Оценка двигательной и ориентировочно-исследовательской активности

Двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность крыс исследовали в тесте «Открытое поле» в течение 5-ти минут на девятый день исследования. Использовалось «поле»

круглой формы черного цвета (ООО «Открытая наука», Россия). Проводили видеорегистрацию теста on line с последующей off line обработкой в программе «Open field – Traking», разработанной

в Физиологическом отделе им. академика И.П. Павлова ФГБНУ «ИЭМ». Оценивали горизонтальную активность (длина пройденной дистанции, скорость и время локомоции, паттерны «сидит»), вертикальную активность («вертикальные

стойки», «стойки с упором»), ориентировочно-исследовательскую активность (паттерн обследование «норок»), а также эмоциональное состояние животных (паттерн «груминг», количество болюсов) [12].

Статистический анализ

При статистическом анализе состава микробиоты кишечника определяли нормальность распределения данных с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Далее для сравнения групп использовали однофакторный дисперсионный анализ с апостериорным тестом Тьюки или непараметрический U-критерий Манна-Уитни, скорректированный на множественные сравнения методом

Бенджамина-Хохберга. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics-22 (IBM, Армонк, Нью-Йорк, США). Различия при $p < 0,05$ считались значимыми.

Поиск корреляций между изучаемыми параметрами проводился с помощью критерия Спирмена в пакете программ Statistica 10.0 (StatSoft, Талса, Оклахома, США).

Результаты и обсуждение

В работе использована модель экспериментального дисбиоза, индуцированного ампициллином и метронидазолом, которая ранее хорошо охарактеризована по изменениям микробиоты, влиянию на пищеварительные функции, иммунную систему и на поведение [17, 18, 19, 22, 23].

Особенностью воздействия использованных antimикробных препаратов (ампициллин и метронидазол) широкого спектра действия является формирование дисбиоза с чрезмерным ростом грамотрицательных энтеробактерий, в частности, принадлежащих к родам *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia* [24, 25]. Отмеченное нами селективное действие антибиотиков на микробиоту отражено и в других публикациях и логично объясняет полученный вариант дисбиоза [25, 26].

Как это было показано ранее при использовании данной экспериментальной модели дисбиоза кишечника у животных развиваются следующие

патологические признаки: диспептические явления (метеоризм, понос, реже запор, изменение характеристик стула, снижение аппетита, нарушение моторики кишечника), увеличение провоспалительных цитокинов, резкое снижение микробного разнообразия и увеличение представленности условно-патогенных бактерий одного вида до 80% от микробиома, наряду со снижением лактобацилл, бифидобактерий, энтерококков, типичных эшерихий [22, 27].

Как было показано ранее, на 3 сутки после введения antimикробных препаратов у крыс наблюдалась изменения консистенции стула, он становился жидким и маслянистым, резко увеличивалась частота дефекаций. К 9 дню эксперимента у 43,8% крыс (у 7 из 16) из группы К1 произошла спонтанная нормализация стула. В группах, получавших аутопробиотики, доля таких животных составила 93,8% (30 из 32 крыс).

Исследование двигательной и ориентировочно-исследовательской активности

Ранее нами [19] на этой же модели экспериментального дисбиоза при использовании для коррекции пробиотических и аутопробиотических энтерококков в teste «открытое поле» было показано, что пробиотики влияли больше на локомоторный компонент,

тогда как аутопробиотики – на ориентировочно-исследовательскую активность. В настоящем исследовании повторно оценивалось влияние аутопробиотических энтерококков и впервые исследовалась эффективность аутопробиотического консорциума.

Горизонтальная активность

Оценка двигательной активности здоровых крыс группы К2 показала, что за 5 минут теста они проходят в среднем 19.5 ± 1.2 м, перемещаются со скоростью 0.082 ± 0.005 м/с и проводят в движении 120.8 ± 5.3 с. В группе К1 введение antimикробных препаратов без последующей коррекции аутопробиотиками не приводило к достоверным изменениям этих параметров, однако поведение крыс внутри самой группы варьировало и треть крыс демонстрировала сниженную активность (крысы проходили 13 м и менее), а у 20% крыс, напротив, отмечалась стимуляция двигательной активности (крысы проходили более 26 м). Следует отметить, что у 56,2% крыс из группы К1 на 9 день эксперимента все еще присутствовали признаки дисбиоза в виде нарушенной консистенции стула, и это были как раз крысы с измененной двигательной активностью, как сниженной, так и повышенной.

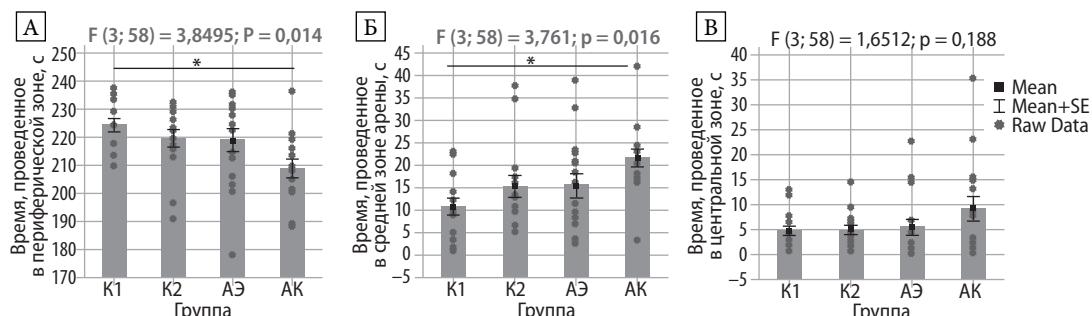
Однако также отмечалась тенденция к снижению или увеличению двигательной активности у крыс после воздействия аутопробиотиков, хотя у животных уже произошла нормализация консистенции стула. При этом в группе АЭ сниженную активность демонстрировало 43% крыс, а доля высоко активных составила 5%. В группе, получавшей АК, соотношение было противоположным: 10% и 43%, соответственно, низко активных и высоко активных крыс. Таким образом, в каждой группе, получавшей антибиотики, независимо от того корректировался у них дисбиоз или нет, у половины крыс была изменена двигательная активность в сторону снижения или повышения.

За счет увеличения доли высокоактивных крыс в группе АК отмечались тенденции к возрастанию скорости их перемещения, времени локомоции и, соответственно, пройденной дистанции,

Рисунок 2.

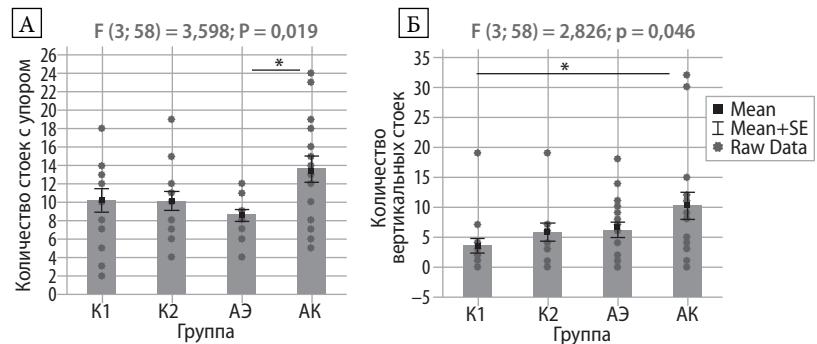
Время, проведенное крысами в разных зонах арены «открытого поля»:
а – периферическая зона, б – средняя зона, в – центральная зона

Примечание:
Достоверные различия между группой АК и группой К1, * $p < 0,05$

**Рисунок 3.**

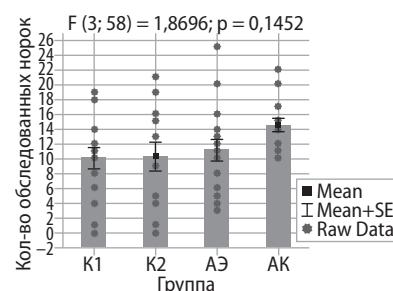
Вертикальная активность крыс в тесте «открытое поле»: а – количество стоек с упором, б – количество вертикальных стоек.

Примечание:
достоверные отклония группы АК от других групп, * $p < 0,05$

**Рисунок 4.**

Количество обследованных крысами «норок» в тесте «открытое поле».

Примечание:
достоверные отклония группы АК от других групп, * $p < 0,05$



которые однако не достигли уровня статистической значимости.

Однако отмечалась характерная особенность – крысы, получавшие в качестве коррекции дисбактериоза АК, совершали больше выходов в среднюю зону арены, чем крысы из группы К1, и отмечалась

тенденция к большему времени их нахождения в центральной зоне (рис. 2).

Данный паттерн обследования арены может свидетельствовать о снижении уровня тревожности, хотя различий по количеству актов «груминг» между группами не наблюдалось.

Вертикальная активность

Вертикальная активность также возрастила в группе АК. В этой группе количество стоек с упором было существенно больше, чем в других группах (рис. 3 а).

Количество вертикальных стоек без упора достоверно различалось между группами АК и К1, с двумя другими группами отмечалась лишь тенденция (рис. 3 б).

Исследовательская активность

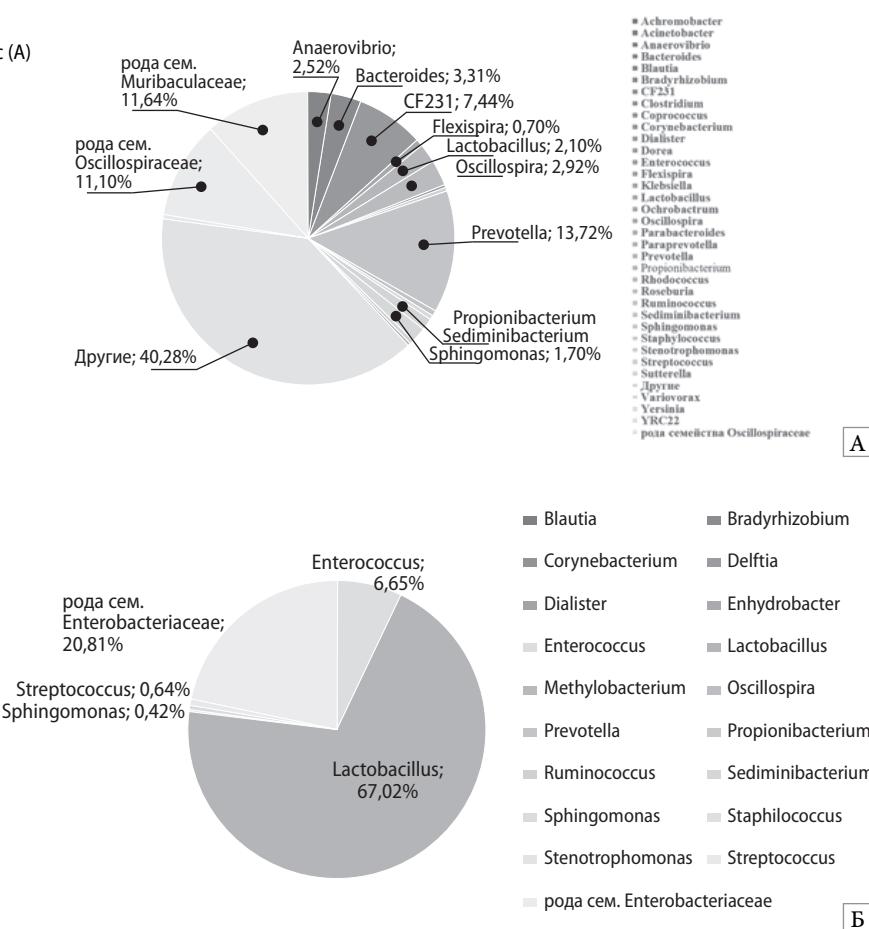
Количество обследованных норок, как видно на рис. 4 между группами не различалось. Однако обращает внимание, что в отличие от остальных групп, в группе АК минимальное количество норок, которое обследовали крысы, было – 10. Тогда как в остальных группах, включая контрольную, были крысы с высокой и низкой исследовательской активностью. Учитывая высокую вертикальную активность крыс, все-таки можно предположить, что АК стимулировал ориентированно-исследовательскую активность крыс.

Таким образом, животные из групп АЭ, К1 и К2 между собой не различались ни по одному показателю. Группа АК по сравнению с этими тремя

группами характеризуется большей двигательной активностью и меньшей тревожностью. Поскольку на поведенческие реакции может влиять измененный состав кишечного микробного сообщества для выявления таксонов с психо-модулирующими свойствами важно было оценить состав вводимого аутопробиотического консорциума, проанализировать особенности состава микробиоты кишечника у крыс из различных групп на 8 день эксперимента. В данной работе проведено сравнение действия аутопробиотических энтерококков и консорциума только в конце эксперимента, когда было ожидаемо максимальное восстановление микробиоценоза даже при отсутствии аутопробиотической коррекции.

Рисунок 5.

Бактериальный состав
фекалий здоровых крыс (А)
и консорциумов (Б).



Состав индигенного микробного консорциума

Большое внимание было уделено анализу состава аутопробиотического консорциума. Создание консорциумов рассматривается как альтернатива моноштаммовым аутопробиотическим средствам. Преимущество консорциумов, как уже указывалось во введении, было впервые отмечено при исследовании их влияния на микробиоту кишечника и иммунитет [17].

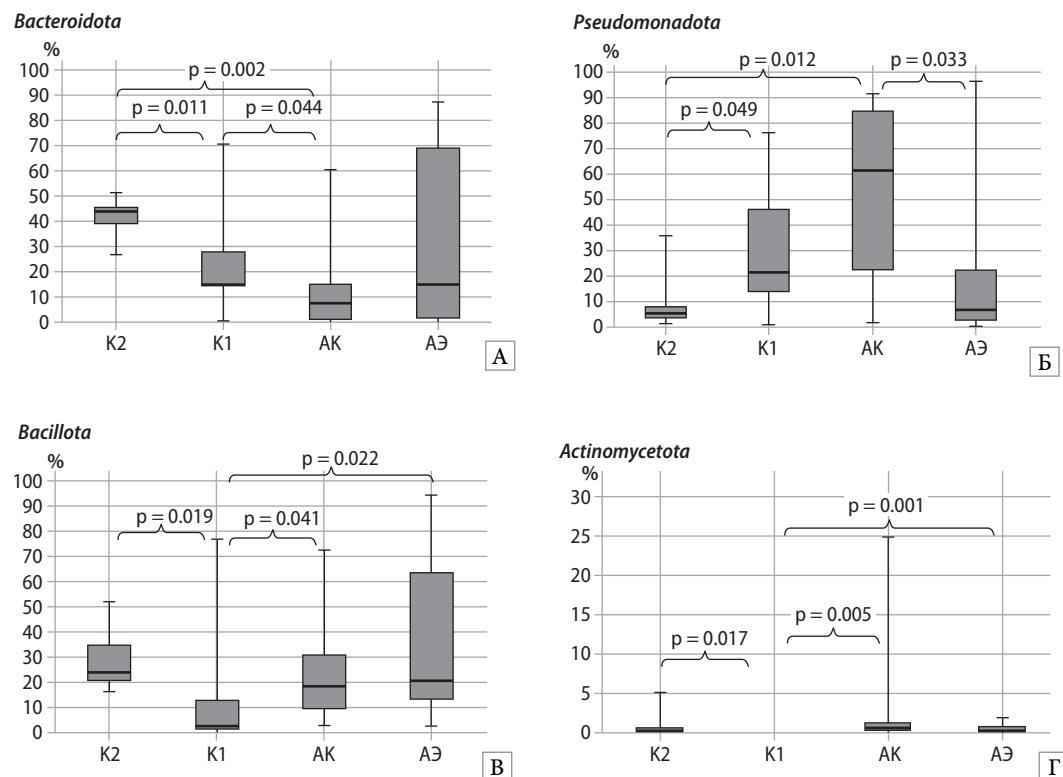
В работе при помощи метагеномного анализа проведено сопоставление бактериального состава консорциумов, полученных путем культивирования фекальных проб, и фекального микробиома крыс до индукции дисбиоза (рис. 5). Хочется подчеркнуть, что понятие «консорциум» часто путают со смесями микроорганизмов. В данной работе консорциум является поиском возможности создания заменителя микробиоты, который получается за счет совместного симбиотического роста компонентов микробиоценоза в искусственно созданных селективных условиях. Исследования по созданию так называемой искусственной микробиоты, включающей большое число полезных компонентов естественного микробиоценоза проводятся и другими авторами, однако, как правило, практической целью является поиск новых поликомпонентных пробиотических средств путем смешивания отдельных бактериальных штаммов [28, 29].

Условия культивирования проб аутопробиотического консорциума нами заранее подобраны

и преимущества выбранного варианта описаны в патенте [21]. Как и предполагалось, микробное разнообразие в аутопробиотических консорциумах даже здоровых крыс существенно снизилось. Микробиота здоровых животных характеризовалась 40% представленностью филума *Bacteroidota*, в основном родами семейства *Muribaculaceae* и родом *Prevotella*, 30% представленностью филума *Bacilliota* в состав которого входят лактобациллы (2,1%) и *Oscillospira* spp. (2,9%). Представленность филума *Pseudomonadota* была сравнительно низкой (10%), причем доля представителей семейства *Enterobacteriaceae* суммарно составляла менее 1%. Значительно чаще выявлялись представители семейств других филумов. Наибольшую долю составляли *Oscillospiraceae* (ранее *Ruminococcaceae*, 10%), а также *Bacteroidaceae*, *Comamonadaceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Lachnospiraceae*, *Sphingomonadaceae*, представленность которых находилась в диапазоне от 1,5 до 3%. Обращало на себя внимание исчезновение в составе консорциума превотелл, представленность которых, как правило, увеличена у млекопитающих с преобладанием в рационе питания растительной пищи [30]. Однако использованные условия культивирования в тиогликоловой среде с добавлением глюкозы, по-видимому, создали селективные преимущества для роста лактобацилл и энтерококков. Также следует отметить резкое увеличение в составе ИМК представленности бактериальных родов, относящихся к семейству

Рисунок 6.

Представленность отдельных филумов в различных группах крыс на 8 день эксперимента. Филумы:
 А – *Bacteroidota*,
 Б – *Pseudomonadota*,
 В – *Bacillota*,
 Г – *Actinomycetota*.



Enterobacteriaceae. Подчеркнем, что несмотря на этот кажущийся недостаток состава консорциума, присутствие в нем живых энтеробактерий и их метаболитов в такой высокой доле (20,8%) было исключено за счет длительности культивирования проб и тщательного отмывания осажденных центрифугированием осадков от питательной среды,

устраниением продуктов вторичного метаболизма и компонентов клеточных стенок нежизнеспособных бактерий. Отсутствие условно-патогенных бактерий и грибов подтверждалось результатами посевов ИМК в период пробоподготовки персонализированного материала перед введением животным.

Влияние аутопробиотиков на состав микробиоты кишечника

В ранее проведенных исследованиях влияния пробиотических и аутопробиотических энтерококков на микробиоту при коррекции экспериментального дисбиоза с использованием той же самой модели было показано, что индигенные штаммы *Enterococcus faecium* (в отличие от пробиотического штамма *E. faecium* L-3) проявляли выраженный бифидогенный эффект, сохраняли популяцию эшерихий, ингибировали рост протея, но обладали сравнительно низкой антагонистической активностью в отношении клебсиелл. Ранее в исследованиях на модели экспериментального дисбиоза было показано, что на фоне введения ампициллина и метронидазола к третьему дню использования антибиотических препаратов возникает выраженный дисбиоз с преобладанием энтеробактерий – клебсиелл или протея, полного восстановления микробиоценоза как правило не происходит [17, 19].

В данной работе подтвердилось длительное сохранение дисбаланса микробиоты после введения

антибиотических препаратов, который во всех группах проявлялся существенным увеличением популяции представителей филума *Pseudomonadota* (рис. 6). В то же время, в группе K1, в отличие от групп AK и AЭ, было менее выражено снижение доли *Bacteroidota*, но не были восстановлены (увеличены) представленности принципиально важных ключевых филумов *Bacillota* и *Actinomycetota*. Выявленные крупно масштабные изменения нельзя оставить без внимания даже при безусловном признании важности роли отдельных родов, видов и даже штаммов представителей микробиоты кишечника.

При сравнении групп AЭ и AK с K2 более эффективным и менее «травматичным» для микробиоты по представленности всех рассматриваемых филумов оказался аутопробиотик на основе аутопробиотических энтерококков.

Наиболее интересные результаты получены при анализе представленности различных бактерий на уровне родов.

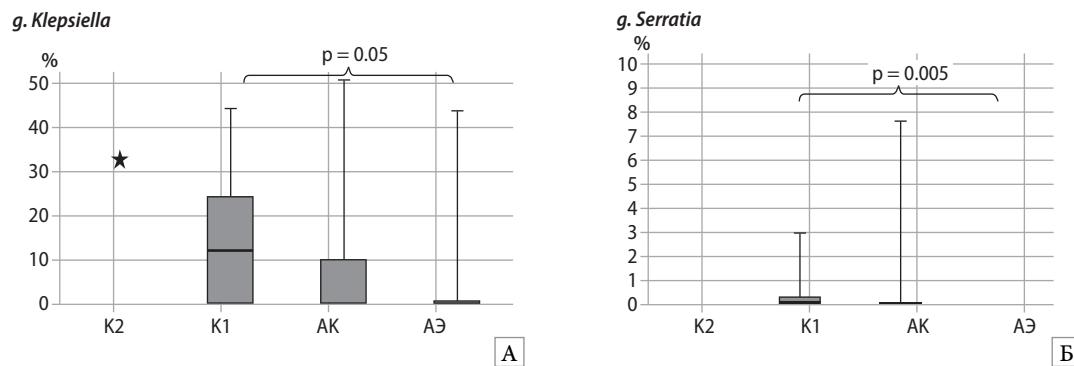
Представленность грамотрицательных бактерий на уровне родов

Прежде всего, обращало на себя внимание действие аутопробиотиков на популяции представителей семейства *Enterobacteriaceae* (рис. 7). Выявлено более низкое представительство родов *Klebsiella*

и *Serratia* в группе AЭ и выраженная тенденция к снижению популяции этих бактерий в группе AK по сравнению с животными из группы K1, у которых коррекция дисбиоза не проводилась. Снижение

Рисунок 7.
Представленность отдельных родов представителей семейства *Enterobacteriaceae*, А- *Klebsiella*, Б- *Serratia*.

Примечание:
* наличие достоверных различий с другими группами при сравнении с K2.



представительства клебсиелл после АЭ и тенденция после АК имеет существенное значение и перспективы для возможного практического использования. Дисбиоз, проявляющийся чрезмерным ростом клебсиелл, особенно плохо корректируется, как и локальные и генерализованные инфекции, связанные с данным возбудителем [31]. В любом случае, существенное снижение клебсиелл может рассматриваться как перспективный метод для коррекции не только клебсиеллезного дисбиоза. Борьба с этими «супербактериями», обладающими выраженной резистентностью к действию большинства антибиотиков и устойчивых к бактериофагам, является весьма актуальной задачей [32, 33]. Аналогичные данные в виде тенденций были получены и для *Serratia* spp. менее патогенного, но также часто встречающегося представителя семейства *Enterobacteriaceae*.

Увеличение представленности суттерелл (класс β -*Proteobacteria*) было обнаружено только в группе К1 (рис. 8А). Дисбаланс в численности видов *Sutterella* коррелирует с рядом неблагоприятных последствий для здоровья. Многие из них связаны с нарушениями развития и неврологическими расстройствами. Распространенность суттереллы положительно коррелирует с болезнью Крона, язвенным колитом и расстройствами аутистического спектра [34].

Сложно оценить значение увеличения в группах АК и АЭ других бактерий, относящихся к филуму *Pseudomonadota* – сфинтомонасов и ацинетобактера (рис. 8). Можно предположить, что эти бактерии по каким-то причинам оказались более устойчивыми к антимикробному действию аутопробиотиков, и их увеличение отражает компенсаторные изменения в составе микробиоты. Наличие таких смещений в составе микробиоты объясняет достаточно большую представленность рассматриваемого филума.

Важно, что замена лидирующих патогенных видов происходит на менее патогенные виды грамотрицательных бактерий. Так, *Sphingomonas*, относящиеся к классу α -*Proteobacteria*, содержат гликосфинголипиды (GSL), в частности керамиды,

вместо липополисахаридов (LPS) в клеточной оболочке и, как правило, образуют колонии с желтой пигментацией. GSL служит для защиты бактерий от антибактериальных веществ. В отличие от большинства грамотрицательных бактерий, *Sphingomonas* не может переносить эндотоксины из-за отсутствия липополисахаридов и имеет гидрофобную поверхность, характеризующуюся малым количеством углеводной части GSL. Эти бактерии встречаются в самых разных местах обитания, но факторы, определяющие предпочтения местообитаний, неясны, их патогенность не доказана, хотя они встречаются в клинических изолятах [35].

Acinetobacter – это род грамотрицательных бактерий, относящихся к классу γ -*Proteobacteria*. Виды *Acinetobacter* являются важными почвенными организмами, которые способствуют минерализации ароматических и других соединений. Виды *Acinetobacter*, в частности *Acinetobacter baumannii*, являются основным источником инфекции у ослабленных пациентов в больницах [36].

Влияние на представителей филума *Bacteroidota*, как отмечено ранее, привело к компенсации дисбиотического состояния только в группе АЭ, в остальных группах АК и К1 представленность этого таксона была меньше, чем в группе К2, а в случае воздействия аутопробиотического консорциума была даже более выражена, чем без коррекции дисбиоза. Как видно на рис. 9, снижение популяции превотелл по сравнению с группой К2 было выражено во всех группах. Следует признать, что отсутствие воздействия аутопробиотиков позволяло в большей степени сохранить долю этих важных компонентов микробиоты, характерных для млекопитающих, использующих в своем рационе питания в основном растительную пищу [30]. Несколько нелогичным и трудно объяснимым кажется сохранение той же тенденции и в отношении *Parabacteroides* spp. Содержание представителей семейства *Bacteroidaceae* нередко находится в обратной корреляционной связи с *Prevotellaceae* [37].

Рисунок 8.
Представленность отдельных родов филума *Pseudomonadota*. А- *Sutterella*, Б- *Acinetobacter*, В- *Sphingomonas*.

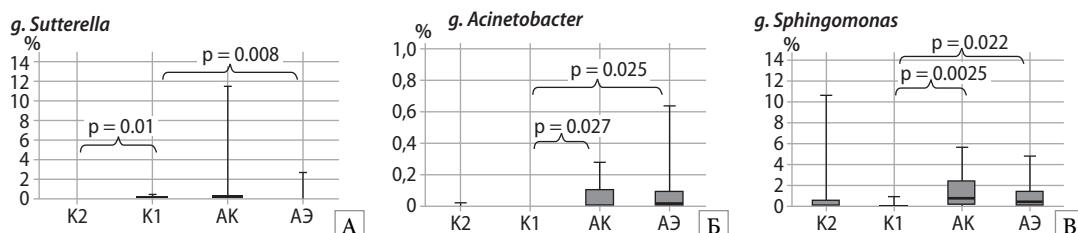


Рисунок 9.
Представленность родов
Prevotella (А) и *Parabacteroides* (Б) в составе микробиоты кишечника крыс различных групп.

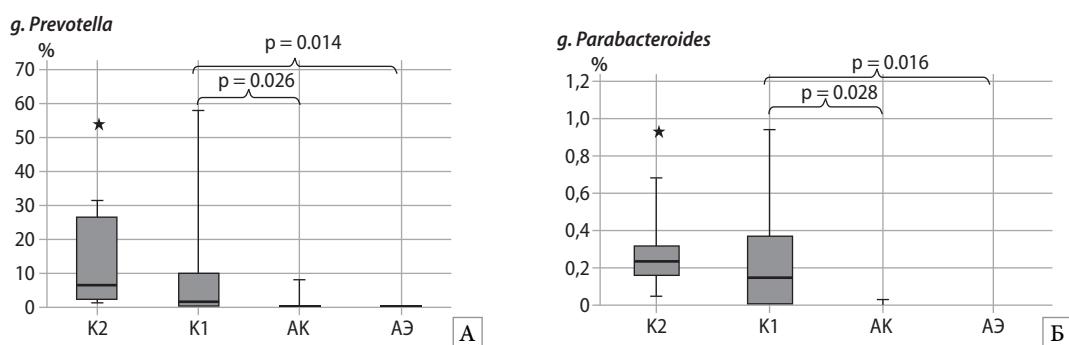


Рисунок 10.
Представленность лактобацилл (А) и энтерококков (Б) в составе микробиоты кишечника крыс различных групп.

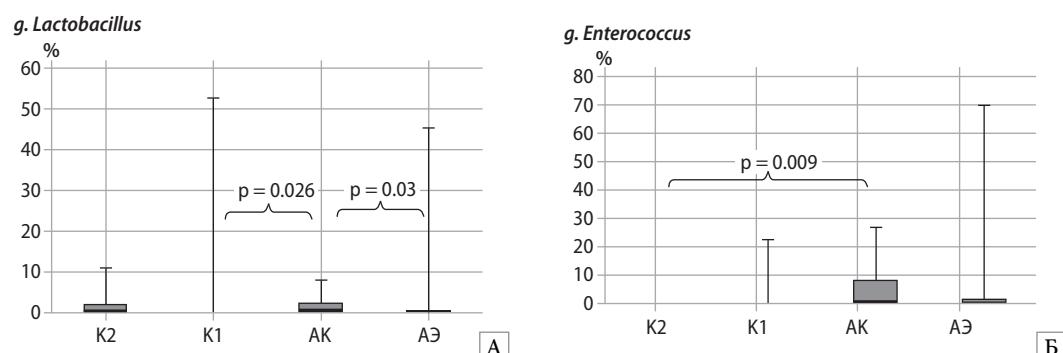
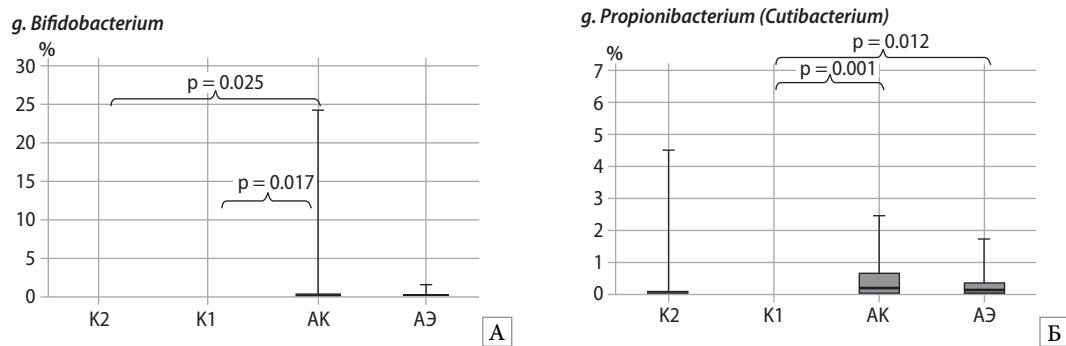


Рисунок 11.
Представленность *Bifidobacterium* spp. (А) и *Cutibacterium* spp. (Б) в составе микробиоты кишечника крыс различных групп.



Представленность грамположительных бактерий

Как уже было отмечено, только в группе K1 наблюдалось снижение популяции филума *Bacillota*. Это проявилось и в отношении некоторых родов, принадлежащих к данному филуму.

Большую представленность лактобацилл в группах AK и AЭ по сравнению с K1 и увеличение популяции энтерококков в группе AK (рис. 10), по-видимому, можно рассматривать как позитивные изменения микробиоты, весьма логичные после введения аутопробиотиков, в состав которых входят лактобациллы и энтерококки.

Также в качестве примера позитивного влияния на микробиоту кишечника отметим увеличение представленности рода *Bifidobacterium*, относящегося к филуму *Actinomycetota*. Ранее этот эффект был описан нами при использовании аутопробиотических энтерококков [19]. В данной серии экспериментов обнаружена лишь тенденция в отношении групп AЭ и существенное превышение представленности бактерий этого рода в группе AK по сравнению с обеими контрольными группами. Увеличению доли филума *Actinomycetota* в группах AK и AЭ

также способствовало увеличение популяций *Propionibacterium* (*Cutibacterium*) (рис. 11). Основной вид *Cutibacterium acnes* имеет три подвида и множество типов, которые могут поддерживать здоровье кожи или быть связанны с различными заболеваниями. Несмотря на неоднозначность функций бактерий этого рода в кишечнике, они могут рассматриваться в качестве продуцентов пропионовой кислоты, которая препятствует росту плесени и некоторых бактерий. Неудивительно, что продуценты пропионовой кислоты используются для производства пищевых продуктов, потребляемых человеком, и в кормах для животных [38].

Обобщенные результаты сравнения групп между собой представлены в таблице 2. Они позволяют в целом оценить степень восстановления микробиоты до уровня K2, а также и выявить особенности отдельных групп животных после коррекции дисбиоза и при отсутствии коррекции (группа K1).

Как видно из приведенных в таблице и рисунках данных: 1) отсутствие аутопробиотической

Таблица 2.
Обобщенные
результаты
сравнения групп
по особенностям
состава микро-
биоты на 8 день
исследования по-
сле использования
аутопробиотиков
и без коррекции
дисбиоза.

Таксон	K2-АК	K2-АЭ	K2-К1	K1-АК	K1-АЭ	АК-АЭ
<i>Pseudomonadota</i>	<	<	<	=	=	>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<	<	<	=	=	>
<i>Klebsiella</i>	<	<	<	>*	>	>*
<i>Sutterella</i>	=	=	<	=	>	=
<i>Serratia</i>	=	=	=	=	>	=
<i>Sphingomonas</i>	=	=	=	<	<	=
<i>Acinetobacter</i>	>*	>*	=	<	<	=
<i>Bacteroidota</i>	>	=	>	>	=	=
<i>Bacteroides</i>	=	>*	=	>	=	<
<i>Parabacteroides</i>	>	>	>	>	>	=
<i>Prevotella</i>	>	>	>	>	>	=
<i>Bacillota</i>	=	=	>	<	<	=
<i>Lactobacillus</i>	=	=	=	<	<	=
<i>Enterococcus</i>	<	=	=	=	=	=
<i>Actinomycetota</i>	=	=	>	<	<	=
<i>Bifidobacterium</i>	<	=	=	<	=	=
<i>Propionibacterium</i>	<	=	=	<	<	=

Примечание:

серым цветом выделены ячейки в таблице, где разница в представленности таксонов между указанными группами была $> 0,05$, * – выявлены тенденции.

коррекции вызывало частичное спонтанное восстановление микробиоты; 2) максимальное сходство с группой К2 имели пробы, полученные от крыс из группы АЭ (11 из 17 таксонов); в группах АК и К1 сходство наблюдалось реже (9 из 17 таксонов). Однако, при наличии большого количества животных с диспептическими проявлениями на состояние животных все же влияло присутствие большого

числа условно-патогенных бактерий, в частности клебсиелл, вызывающих локальные изменения воспалительного характера, приводящие к нарушению пищеварения, как это было показано ранее и подтверждилось в данном эксперименте. Поведенческие реакции оказались более сложными в их анализе и трактовке.

Корреляционный анализ между компонентами микробиоты и параметрами двигательной и ориентировочно-исследовательской активности

Мы не обнаружили корреляций между скоростными характеристиками локомоции, пройденной дистанцией, или времени локомоции с какими-либо бактериальными таксонами. Однако отмечались корреляции с локализацией животных в разных зонах арены, которую позволяет определить используемая нами программа обработки поведения животных. Так, выявлена отрицательная корреляция ($r = -0.43$; $p < 0.05$) доли *Bacillota* с выходами в центральную зону арены. Напротив, *Bacteroidota* имели положительную связь с выходами в среднюю и центральную зоны арены ($r = 0.44$ и $r = 0.47$; $p < 0.05$, соответственно). Удивительно, что никакой связи с поведенческими паттернами не наблюдалось у филумов *Pseudomonadota* и *Actinomycetota*, которые обычно влияют на психоэмоциональное состояние.

На уровне рода корреляции, наблюдавшиеся на уровне соответствующего филума выявлены у *Prevotella* ($r = -0.37$). Представленность этого таксона находилась в отрицательной корреляции с параметром «норка», что отчасти объясняет увеличение исследовательской активности в группах АК и АЭ.

Выявлена также связь поведенческих паттернов с родами, для которых на более высоких таксономических уровнях не было выявлено корреляций. Так для рода *Sutterella* выявлены значимые положительные корреляции с суммарным количеством посещений периферической зоны арены и со временем локомоции ($r = 0.43$ и $r = 0.38$, соответственно, при $p < 0.05$).

Наконец, представленность *Acinetobacter* имела прямую корреляционную связь с исследовательскими параметрами (стоки с упором – $r = 0.48$; норки – $r = 0.55$ при $p < 0.05$).

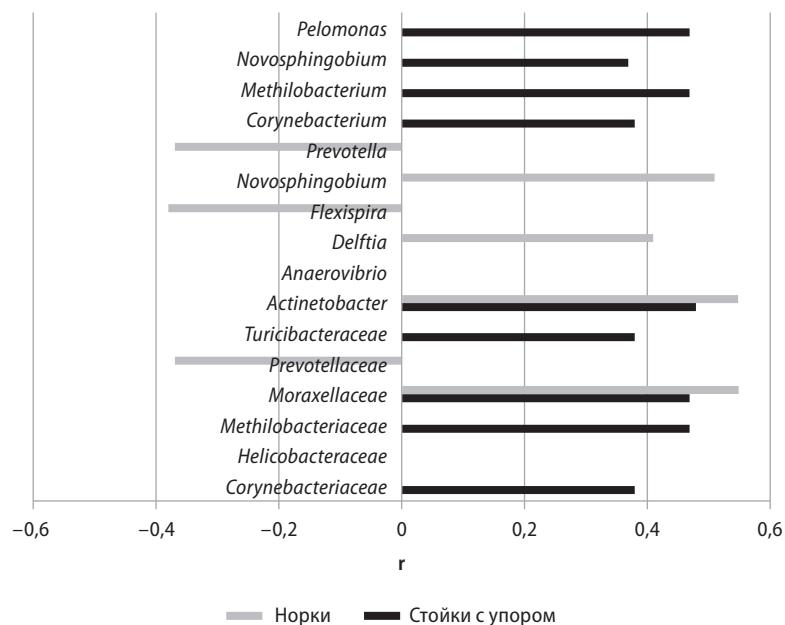
Заключение

Полученные результаты еще раз доказывают существование оси «кишечная микробиота – мозг», с двунаправленным взаимодействием [39]. Выявленные корреляционные связи между представленностью таксонов в микробиоме кишечника животных и отдельными поведенческими паттернами требуют

дополнительных исследований, но уже сейчас частично объясняются выявленными ранее механизмами влияния микробиоты на ПНС и ЦНС и участия в этих процессах *«Eubacterium, Ruminococcus, Roseburia, Bifidobacterium, Clostridium, Escherichia и Lactobacillus»* [3], содержащих в геноме

Рисунок 12.

Выявленные корреляции по представленности таксонов с поведенческими показателями, характеризующими исследовательские функции «норки» и стойки с упором. Примечание: приведены значения коэффициентов корреляции r Спирмена, удовлетворяющие уровню значимости $p < 0,05$.



наибольшее число исследуемых генов ферментов, участвующих в продукции нейроактивных соединений.

Выявлены специфические особенности воздействия аутопробиотических энтерококков и консорциума с высоким содержанием индигенных лактобацилл, энтерококков и непатогенных энtero-бактерий на микробиоту кишечника и поведенческие реакции. При отборе вида аутопробиотиков и способов приготовления аутопробиотических консорциумов необходимо обращать внимание на их состав, меняющийся в зависимости от условий

культтивирования биологических проб. При этом важно учитывать имеющиеся у пациентов психо-эмоциональные нарушения и ожидаемый специфический эффект от коррекции.

Разработанные методические подходы и новые фундаментальные знания о путях восстановления микробиоценоза человека в условиях дисбиозов могут найти самое широкое применение в практике здравоохранения, а также способствовать своевременной профилактике дисбиотических патологических состояний различного генеза, включая стресс-индуцированные.

Вклад авторов

Ермоленко Елена Игоревна: разработка идеи, сбор и извлечение данных, систематизация данных, написание статьи.
Котылева Марина Петровна: разработка идеи, исследование метагенома, анализ результатов исследования, написание статьи, одобрение направления рукописи на публикацию.

Новикова Надежда Сергеевна: разработка идеи исследования, анализ результатов исследования, написание статьи.
Карасева Алена Борисовна: исследование метагенома.

Мацулевич Анна Викторовна: проведение поведенческих экспериментов, сбор и извлечение данных, редактирование рукописи, одобрение направления рукописи на публикацию.

Забельникова Александра Михайловна: проведение поведенческих экспериментов, анализ результатов исследования, редактирование рукописи, одобрение направления рукописи на публикацию.

Абдурасулова Ирина Николаевна: разработка идеологии, анализ и обработка данных, написание текста статьи, общее руководство.

Источники финансирования

Работа выполнена по государственному заданию ФГБНУ «ИЭМ» в рамках прикладных научных исследований FGWG-2023-0004.

Sources of funding

The work was carried out under the state assignment of the Federal State Budgetary Scientific Institution "IEM" within the framework of the Applied Scientific Research FGWG-2023-0004.

Литература | References

1. Lyte M. The microbial organ in the gut as a driver of homeostasis and disease. *Medical hypotheses*. 2010;74(4):634–638. doi: 10.1016/j.mehy.2009.10.025.
2. Averina O.V., Danilenko V.N. Human intestinal microbiota: role in the formation and functioning of the nervous system. *Microbiology*. 2017;86(1):5–24. (In Russ.) doi: 10.7868/S0026365617010050.
3. Averina O.V., Danilenko V.N. Микрофлора кишечника человека: роль в становлении и функционировании нервной системы. *Микробиология*. 2017;86(1):5–24. doi: 10.7868/S0026365617010050.
4. Kovtun A.S., Averina O.V., Zakharevich N.V., Kasyanov A.S., Danilenko V.N. In silico determination of a metagenomic signature reflecting the neurometabolic potential of the human intestinal microbiota in norm. *Genetics*. 2018;54(9):1081–1091. (In Russ.)
Ковтун А.С., Аверина О.В., Захаревич Н.В., Касьянов А.С., Даниленко В.Н. In silico определение метагеномной сигнатуры, отражающей нейрометаболический потенциал микрофлоры кишечника человека в норме. *Генетика*. 2018;54(9):1081–1091.
5. Bravo J.A., Forsythe P., Chew M.V., Escaravage E., Savignac H.M., Dinan T.G., Bienenstock J., Cryan J.F. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(38):16050–16055. doi: 10.1073/pnas.1102999108.
6. Collins S.M., Michael S., Premysl B. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature Reviews Microbiology*. 2012;10(11):735–742. doi: 10.1038/nrmicro2876.
7. Messaoudi M., Nicolas V., Jean-François B., Desor D., Javelot H., Rougeot C. Beneficial Psychological Effects of a Probiotic Formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in Healthy Human Volunteers. *Gut Microbes*. 2011;2(4):256–261. doi: 10.4161/gmic.2.4.16108.
8. Tillisch K., Labus J., Kilpatrick L. et al. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*. 2013;144(7):1394–1401. doi: 10.1053/j.gastro.2013.02.043.
9. Andreeva I.V., Tolpygo A.V., Andreev, V.A. et al. Psychobiotics: a new way in psychopharmacology, or How do bacteria manage our brain? *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2022;24(2):108–133. (In Russ.) doi: 10.36488/cmac.2022.2.108–133.
Андреева И.В., Толпыго А.В., Андреев В.А., Азизов И.С., Гольман И.А., Осипова Н.Н., Привольнов В.В., Степюк О.У., Соколовская В.В. Психобиотики: новое направление в психофармакологии, или как бактерии влияют на наш мозг? Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2022;24(2):108–133. doi: 10.36488/cmac.2022.2.108–133.
10. Liu W.H., Chuang H.L., Huang Y.T., Wu C.C., Chou G.T., Wang S., Tsai Y.C. Alteration of behavior and monoamine levels attributable to *Lactobacillus plantarum* PS128 in germ-free mice. *Behavioural brain research*. 2016;298:202–209.
11. Jiang H., Ling Z., Zhang Y., Mao H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain, behavior, and immunity*. 2015;48:186–194. doi: 10.1016/j.bbi.2015.03.016.
12. Abdurasulova I.N., Sofonova A.F., Sizov V.V., Kotyleva M.P., Ermolenko E.I. Effect of various probiotics on motor and exploratory activity of rats. Health is the basis of human potential: problems and solutions. *Proceedings of the X All-Russian scientific and practical conference with international participation*. 2015;10(1):1047–1051. (In Russ.)
Абдурасулова И.Н., Софонова А.Ф., Сизов В.В., Котылева М.П., Ермоленко Е.И. Действие различных пробиотиков на двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность крыс. Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. Труды X Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. 2015;10(1):1047–1051.
13. Steenbergen L., Sellaro R., van Hemert S. et al. A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain, behavior, and immunity*. 2015;48:258–264. doi: 10.1016/j.bbi.2015.04.003.
14. Ermolenko E., Sitkin S., Vakhitov T. et al. Evaluation of the effectiveness of personalised therapy for the patients with irritable bowel syndrome. *Beneficial Microbes*. 2023;14(2):119–130. doi: 10.3920/BM2022.0053.
15. Bakulina N.V., Tikhonov S.V., Ermolenko E.I. et al. The use of *E. faecium* probiotic and autoprobiotic in patients with type 2 diabetes mellitus. *HERALD of North-Western State Medical University named after II Mechnikov*. 2022;14(1):77–88. (In Russ.) doi: 10.17816/mechnikov104795.
Бакулина Н.В., Тихонов С.В., Ермоленко Е.И., Котылева М.П., Лаврёнова Н.С., Топалова Ю.Г., Симаненков В.И., Суворов А.Н. Использование пробиотических и аутопробиотических *Enterococcus faecium* в лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2022;14(1):77–88. doi: 10.17816/mechnikov104795.
16. Ilyin V.K., Suvorov A.N., Kiryukhina N.V. et al. Autoprobiotics as a means of preventing infectious and inflammatory diseases in humans in an artificial habitat. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2013; 68(2): 56–62. (In Russ.)
Ильин В.К., Суворов А.Н., Кирюхина Н.В., Усанова Н.А., Старкова Л.В., Бояринцев В.В., Карапасева А.Б. Аутопробиотики как средство профилактики инфекционно-спасательных заболеваний у человека в искусственной среде обитания. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013;68(2):56–62.
17. Suvorov A., Karaseva A., Kotyleva M. et al. Autoprobiotics as an approach for restoration of personalised microbiota. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:1869. doi: 10.3389/fmicb.2018.01869.
18. Ermolenko E.I., Donetsk V.N., Dmitrieva Yu.V. et al. Effect of probiotic enterococci on functional characteristics of the rat intestine in dysbiosis induced by antibiotics. *Bulletin of St. Petersburg University. Medicine*. 2009;1:157–167. (In Russ.)
Ермоленко Е.И., Донец В.Н., Дмитриева Ю.В. и др. Влияние пробиотических энтерококков на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибиотиками. *Вестник*

- Санкт-Петербургского университета. Медицина. 2009;1:157–167.
19. Ermolenko E.I., Abdurasulova I.N., Kotyleva M.P. et al. Effects of indigenous enterococci on the intestinal microbiota and the behavior of rats on correction of experimental dysbiosis. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2018;48(4):496–505. doi: 1007/s11055–018–0591–7.
 20. Suvorov A.N., Simanenkov V.I., Sundukova Z.R. et al. Method for producing autoprobioptic of Enterococcus faecium being representative of indigenic host intestinal microflora. Patent on the application. No 2460778C1, 30.12.2010. (In Russ.)
Суровов А.Н., Симаненков В.И., Сундукова З.Р. и др. Способ получения аутопробиотика на основе Enterococcus faecium, представителя индигенной микрофлоры кишечника хозяина. Патент по заявке № 2460778C1 от 30.12.2010 г.
 21. Suvorov A.N., Ermolenko E.I., Kotyleva M.P., Tsapieva A.N. Method for preparing an autoprobioptic based on an anaerobic consortium of bacteria. Patent for invention RU 2734896 C2, 10/26/2020. Application No. 2018147697 dated 12/28/2018. (In Russ.)
Суровов А.Н., Ермolenко Е.И., Котылева М.П., Цапиева А.Н. Способ приготовления аутопробиотика на основе анаэробного консорциума бактерий. Патент на изобретение RU 2734896 C2, 26.10.2020. Заявка № 2018147697 от 28.12.2018.
 22. Ermolenko E., Gromova L., Borschew Y. et al. Influence of different probiotic lactic acid bacteria on microbiota and metabolism of rats with dysbiosis. *Bioscience of microbiota, food and health*. 2013; 32(2): 41–49. doi: 10.12938/bmfb.32.41.
 23. Ermolenko E., Rybalchenko O., Borschew Y. et al. Influence of monostrain and multistain probiotics on immunity, intestinal ultrastructure and microbiota in experimental dysbiosis. *Beneficial microbes*. 2018; 9(6): 937–950. doi: 10.3920/BM2017.0117.
 24. Jernberg C., Lofmark S., Edlund C., Jansson J.K. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*. 2010;156(11):3216–3223. doi: 10.1099/mic.0.040618–0.
 25. Huang C., Feng S., Huo F., Liu H. Effects of four antibiotics on the diversity of the intestinal microbiota. *Microbiology spectrum*. 2022;10: e01904–21. doi: 10.1128/spectrum.01904–21.
 26. McFarland L.V. Use of probiotics to correct dysbiosis of normal microbiota following disease or disruptive events: a systematic review. *BMJ open*. 2014;4(8):1–17. doi: 10.1136/bmjopen-2014–005047.
 27. Ermolenko E.I., Erofeev N.P., Zakharova L.B., et al. Features of the composition of the intestinal microbiota and motility after correction of experimental dysbiosis with probiotic and autoprobioptic enterococci. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017;7(143):89–96. (In Russ.)
Ермolenко Е.И., Ерофеев Н.П., Захарова Л.Б. и др. Особенности состава микробиоты и моторики кишечника после коррекции экспериментального дисбионаза пробиотическими и аутопробиотическими энтерококками. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017;7(143):89–96.
 28. Volkova GS, Serba EM. New Multistain Bacterial Consortium for Feed Probiotics. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2021;51(2):260–269. (In Russ.) doi: 10.21603/2074–9414–2021–2–260–269.
Волкова Г.С., Серба Е.М. Создание многоштаммового бактериального консорциума для технологии пробиотических препаратов кормового назначения. *Техника и технология пищевых производств*. 2021;51(2): 260–269. doi: 10.21603/2074–9414–2021–2–260–269.
 29. Kattel A., Aro V., Lahtvee P.J., Kazantseva J., Jöers A., Nahku R., Belouah. I. Exploring the resilience and stability of a defined human gut microbiota consortium: An isothermal microcalorimetric study. *Microbiologyopen*. 2024 Aug;13(4): e1430. doi: 10.1002/mbo3.1430.
 30. Precup G., Vodnar D.C. Gut Prevotella as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review. *British Journal of Nutrition*. 2019; 122(2):131–140. doi: 10.1017/S0007114519000680.
 31. Chang D., Sharma L., Dela Cruz, C.S., Zhang D. Clinical epidemiology, risk factors, and control strategies of Klebsiella pneumoniae infection. *Frontiers in microbiology*. 2021;12: 750662. doi: 10.3389/fmicb.2021.750662.
 32. Arato V., Raso M.M., Gasperini G., Berlanda Scorza F., Micolli F. Prophylaxis and treatment against Klebsiella pneumoniae: current insights on this emerging anti-microbial resistant global threat. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(8):4042. doi: 10.3390/ijms22084042.
 33. Russo A., Fusco P., Morrone H.L., Trecarichi E.M., Torti C. New advances in management and treatment of multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2023;21(1):41–55. doi: 10.1080/14787210.2023.2151435.
 34. Hiippala K., Kainulainen V., Kalliomäki M., Arkkila P., Satokari R. Mucosal prevalence and interactions with the epithelium indicate commensalism of Sutterella spp. *Frontiers in microbiology*. 2016;7:1706. doi: 10.3389/fmicb.2016.01706.
 35. Sorouri B., Rodriguez C.I., Gaut B.S., Allison S.D. Variation in Sphingomonas traits across habitats and phylogenetic clades. *Frontiers in Microbiology*. 2023;14:1146165. doi: 10.3389/fmicb.2023.1146165.
 36. Doughari H.J., Ndakidemi P.A., Human I.S., Benade S. The ecology, biology and pathogenesis of Acinetobacter spp.: an overview. *Microbes and environments*. 2011;26(2): 101–112. doi:10.1264/jsme2.me10179.
 37. Gorvitovskaya A., Holmes S.P., Huse S.M. Interpreting Prevotella and Bacteroides as biomarkers of diet and lifestyle. *Microbiome*. 2016;4(1):15. doi: 10.1186/s40168–016–0160–7.
 38. Boyanova L. Cutibacterium acnes (formerly Propionibacterium acnes): friend or foe? *Future Microbiology*. 2023;18(4): 235–244. doi: 10.2217/fmb-2022–0191.
 39. Davari S., Talaei S.A., Alaei H., Salami M. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome–gut–brain axis. *Neuroscience*. 2013;240:287–296. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.02.055.