



ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

# МИКРОБИОТА

## ЭНТЕРОФЛОР<sup>®</sup> Дети

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ  
СОСТАВА МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА  
В ОБРАЗЦАХ КАЛА ДЕТЕЙ МЕТОДОМ ПЦР  
В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ





# КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА



**Микробиота кишечника** человека представляет собой сложную, динамичную экосистему, населенную множеством микроорганизмов, включая бактерии, грибы, археи и вирусы. Они взаимодействуют между собой и с организмом человека, участвуя во множестве метаболических процессов. Общее количество микробных клеток в кишечнике человека может на порядок превышать число собственных клеток организма [1]. Совокупное число белок-кодирующих генов микробиоты в сотни раз больше количества человеческих генов [2]. Это позволяет кишечному микробиому выполнять ряд функций, которые недоступны клеткам организма человека.



Микробиота кишечника участвует в метаболизме углеводов и белков, обмене жиров, а также производит такие важные промежуточные продукты обмена веществ, как короткоцепочечные жирные кислоты (КЖК), вторичные желчные кислоты (ВЖК), витамины и липополисахарида. Эти метаболиты выполняют роль сигнальных молекул, участвующих в работе всех систем организма человека, в том числе влияют на аппетит, перистальтику кишечника, потребление и накопление энергии. Микробиота стимулирует созревание иммунной системы и участвует в обеспечении барьерной функции кишечника, защищая его от колонизации патогенами.



На видовом уровне сложно выделить филогенетическое «ядро микробиоты» — доминирующие микроорганизмы, встречающиеся у большинства людей (>50%). Это связано с функциональной избыточностью микробиоты: ряд функций может выполняться представителями разных таксонов. Кроме того, метаболические функции микроорганизмов могут быть гомогенны даже внутри семейства, то есть разные виды могут функционально замещать друг друга и преобладать в микробиоте разных здоровых людей без нарушения биоценоза.

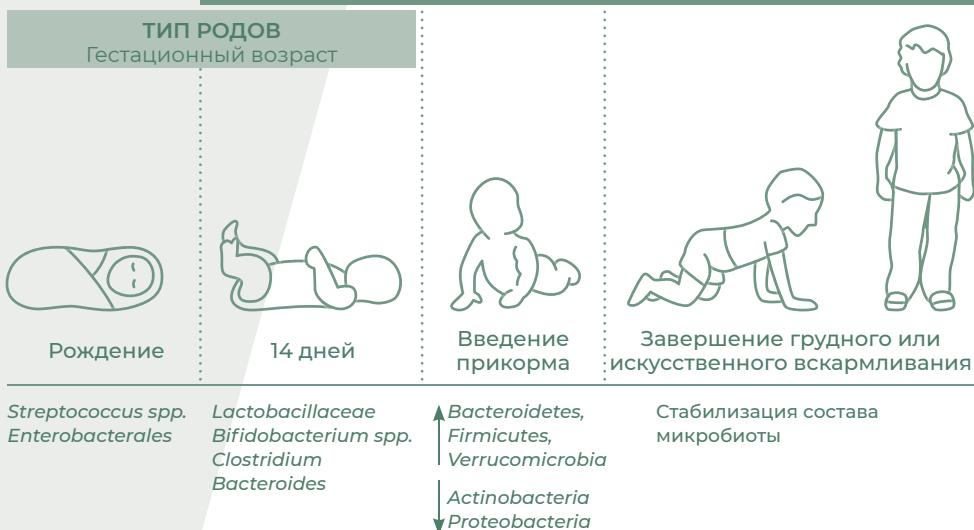
## ДЕТСКИЙ ВОЗРАСТ — ПЕРИОД ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБИОМА КИШЕЧНИКА

Вопрос о наличии и происхождении «микробиоты» мекония является спорным [3-5]. В кишечнике плода в норме микробиоты нет, поскольку отсутствуют субстраты для питания микроорганизмов. Источниками появления микробиоты в меконии новорожденного могут быть как вагинальная, кожная и фекальная микробиота матери, так и микробиота полости матки и наружная поверхность ворсин хориона. В любом случае до начала вскармливания ребенка микробиота мекония является транзиторной.

Формирование собственной кишечной микробиоты ребенка — это длительный и динамичный процесс, в котором выделяют четыре последовательные фазы [6].

## ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ

### ТИП ВСКАРМЛИВАНИЯ, ДИЕТА



Динамика формирования кишечной микробиоты у детей зависит от срока гестации, способа родоразрешения, типа питания и применения антибиотиков, поэтому состав микробиоты может различаться у детей одного возраста.

- Кишечная микробиота младенцев, рожденных **естественным путем**, характеризуется низким разнообразием, но стабильным составом, так как при родах дети контактируют с представителями вагинальной, кожной и фекальной микробиоты матери [7-8]. У детей, рожденных **путем кесарева сечения**, формирование кишечной микробиоты происходит дольше и чаще обнаруживаются условно-патогенные микроорганизмы (УПМ), такие как *Clostridium difficile*, *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Streptococcus spp.* и *Veillonella spp.*
- **При грудном вскармливании** микробиота кишечника представлена в основном *Bifidobacterium spp.* (в частности *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* и *Bifidobacterium longum*), а также *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.* и *Lactococcus spp.* [9]. У детей, находящихся на искусственном вскармливании, в микробиоте преобладают анаэробы — представители родов *Bacteroides* и *Clostridium*, и снижено число бифидобактерий [10-11].
- **Гестационный возраст** является еще одним ключевым фактором, влияющим на формирование микробиоты кишечника. У недоношенных детей развитие пищеварительной и иммунной систем не завершено. Госпитализация, искусственное вскармливание, применение антибиотиков

могут привести к необратимым изменениям в естественном процессе колонизации и развития микробиоты кишечника [12]. В частности, у недоношенных новорожденных задерживается анаэробная колонизация, и их фекалии содержат большие количества *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* и УПМ по сравнению с доношенными новорожденными [13].

- **Применение антибиотиков** уменьшает общее разнообразие микробиоты, приводит к увеличению содержания резистентных и потенциально патогенных *Enterobacteriaceae* и *Clostridium* при снижении количества *Bifidobacteriaceae*, *Bacilli* и *Lactobacillales* [14].

## РАЗНООБРАЗИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

Эволюционно многие метаболические функции макроорганизма были возложены именно на кишечную микробиоту. Наиболее «полезно» для человека, когда состав микробиоты (и соответственно возможных метаболических путей) максимально разнообразен. При оценке разнообразия кишечной микробиоты важно учитывать способность разных микроорганизмов совместно метаболизировать вещества, утилизация которых требует участия ферментов, имеющихся у разных таксонов.

Снижение содержания одного ключевого вида микроорганизмов (например, в результате антибиотикотерапии) может привести к снижению титров других и частичной или полной утрате ряда функций кишечной микробиоты.

Связь между пониженным разнообразием микробиоты и наличием заболевания указывает на то, что богатая видами кишечная экосистема более устойчива к неблагоприятным воздействиям окружающей среды [15].

**Понимание того, как микробиота кишечника влияет на здоровье человека, требует смещения акцента с отдельных патогенов на экологический подход, который рассматривает микробиоценоз кишечника в целом и во взаимодействии с организмом хозяина.**

## НОРМАЛЬНАЯ МИКРОБИОТА

Нормальная микробиота представлена широким спектром микроорганизмов, которые в основном являются представителями трех филумов: *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Bacteroidetes*.

## **ACTINOBACTERIA**

Филум *Actinobacteria* в кишечной микробиоте детей представлен родом *Bifidobacterium* и классом *Coriobacteriia*. Бифидобактерии в числе первых заселяют кишечник ребенка после рождения и на первых месяцах жизни являются доминирующей группой кишечной микробиоты. С возрастом микробиота становится более разнообразной по составу, но бифидобактерии по-прежнему сохраняют свою важную роль в поддержании здоровья человека. Бифидобактерии способствуют предотвращению проникновения возбудителей кишечных инфекций, препятствуя колонизации кишечника патогенами [16].

## **ACTINOBACTERIA**

### *Bifidobacterium spp.*

метаболически активные «детские» виды	Доминирующая группа до введения прикорма. Ферментируют олигосахариды грудного молока, способствуют размножению и закреплению в биоценозе лактобацилл и активации клеточного иммунитета и Т-регуляторных клеток. Способствуют развитию незрелых эпителиальных клеток кишечника	[17-20]
<i>B. bifidum</i>	Ферментирует олигосахариды грудного молока, при введении прикорма метаболизирует полисахариды растительного происхождения. Расщепляет углеводные части муцинов	[16, 21]
<i>B. longum subsp. <i>longum</i></i>	Наиболее представленный вид бифидобактерий. Преобладает в кишечнике детей, находящихся как на грудном, так и на искусственном вскармливании	[22]
<i>B. longum subsp. <i>infantis</i></i>	Преобладает в кишечной микробиоте детей, находящихся на грудном вскармливании	
<i>B. breve</i>	Ферментирует олигосахариды грудного молока, при введении прикорма метаболизирует полисахариды растительного происхождения	
метаболически активные «взрослые» виды	Преобладают среди бифидобактерий кишечной микробиоты после введения прикорма и прекращения вскармливания грудным молоком	
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> <i>Bifidobacterium catenulatum</i> subsp <i>Bifidobacterium animalis subsp. <i>lactis</i></i> <i>Bifidobacterium dentium</i>	Ферментируют поли- и олигосахариды растительного происхождения, способствуя активации гуморального звена иммунитета и провоспалительного Т17	[23]

### *Coriobacteriia*

<i>Coriobacteriia</i>	Принимает участие в биотрансформации полифенолов: лигнинов, флавоноидов, танинов, — природных антиоксидантов	
-----------------------	--	--

## FIRMICUTES

Большая часть кишечных микроорганизмов филума *Firmicutes* относится к классу *Clostridia*. Это наиболее представленный таксон в кишечнике человека, участники которого могут входить как в нормальную микробиоту, так и относиться к условно-патогенной или даже патогенной микробиоте.

Клостридии нормобиоты расщепляют белки и жиры, поставляя пищевые субстраты другим микроорганизмам. Клостридии производят бутират (КЖК) — основной источник энергии для эпителиоцитов толстой кишки. Внутри рода *Clostridium* наиболее представлены в нормобиоте кишечника *Clostridium leptum gr.* и *Lachnospiraceae* (*Clostridium coccoides gr.*), составляющие до 40% и 35% соответственно от общего количества бактерий [24].

FIRMICUTES		
<i>Clostridium leptum gr</i> (кластер IV)	Включает в себя четыре микроорганизма: <i>C. leptum</i> , <i>C. sporosphaeroides</i> , <i>C. cellulosi</i> и <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	[24-25]
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Наиболее часто встречающийся представитель <i>Clostridium leptum gr.</i> Способствует секреции противовоспалительных интерлейкинов IL-10 и IL-12 и ингибированию продукции провоспалительного IL-8. Рассматривается как биомаркер болезней кишечника: при воспалительных патологиях его присутствие в микробиоте снижается	[25-27]
<i>Dialister spp./ Allisonella spp./ Megasphaerae spp./ Veillonella spp.</i>	Входят в семейство <i>Veillonellaceae</i> , являются пропионат-продуцирующими бактериями	[28]
<i>Lachnospiraceae</i> ( <i>Clostridium coccoides gr.</i> , кластер XIVa)	Включает <i>Clostridium</i> , <i>Butyrivibrio</i> , <i>Dorea</i> , <i>Coprococcus</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Ruminococcus</i> и <i>Roseburia</i> . Способны к метаболизированию всех пяти моносахаридов муцина. <i>Lachnospiraceae</i> присутствуют у детей раннего возраста	[25-29]
<i>Lactobacillaceae</i>	Важны с пробиотической точки зрения: заселяют микробиом и продуцируют лактат, не позволяя размножаться патогенам. Повышают барьерную функцию ЖКТ и участвуют в восстановлении гомеостаза при кишечных расстройствах	[30]
<i>Lactococcus lactis</i>	Маркер наличия в диете молока животного происхождения, например применения искусственных молочных смесей, и один из основных производителей лактата среди лактобактерий	
<i>Streptococcus spp.</i>	Относятся к молочнокислым бактериям, сбраживают углеводы	[31]

## BACTEROIDETES

Филум *Bacteroidetes* является вторым по объему в кишечной микробиоте. Представители филума *Bacteroidetes* играют важную роль в метаболизме полисахаридов, являются основными производителями противовоспалительных КЖК в кишечнике и секрецируют метаболиты, участвующие в регуляции работы иммунной и нервной систем.

BACTEROIDETES		
<i>Bacteroides spp.</i>	Ассоциированы с высоким уровнем потребления животных белков и жиров. При недостатке растительных углеводов способны использовать полисахариды, вырабатываемые клетками кишечника, что важно во время дефицита питательных веществ. Являются основными продуцентами витамина K	[32-33]
<i>Prevotella spp.</i>	Способны расщеплять полисахариды при смешанной диете с высоким содержанием клетчатки и доминируют в кишечной микробиоте в популяциях людей, живущих в сельской местности. Синтезируют пропионат	[34]
<i>Parabacteroides spp.</i>	Синтезируют противомикробные вещества, препятствуют колонизации кишечника патогенными бактериями. Чаще обнаруживаются у доношенных детей, рожденных естественным путем. Играют ведущую роль в конверсии желчных кислот в ВЖК, что модулирует метаболизм липидов и глюкозы, предотвращая инсулинорезистентность и ожирение	[35]
<i>Alistipes spp.</i>	Являются продуцентом ацетата и пропионата	[36]
<i>Butyricimonas spp.</i>	Производят ацетат, пропионат и сукцинат	

Таким образом, большая часть микробиоты у детей после двух лет представлена именно бактериями филума *Firmicutes*. Их снижение и сдвиг соотношения *Firmicutes/Bacteroidetes* в сторону *Bacteroidetes* могут быть связаны с развитием воспалительного процесса.

Язвенный колит и болезнь Крона часто связаны со значительным увеличением представителей *Bacteroides* и *Prevotella*, изменением количества бифидобактерий и уменьшением фирмикутов *C. leptum gr*, особенно *F. prausnitzii* [37-38]. При целиакии наблюдается снижение представителей *Lactobacillus* и *Bifidobacteria* и возрастание провоспалительных бактерий, включая семейство *Veillonellaceae*.

## ДРУГИЕ БАКТЕРИИ

Конечный продукт большинства протекающих в кишечнике биохимических реакций — молекулярный водород. Для сохранения метаболической активности микробиоты важно его окисление. Этую функцию в кишечном биоценозе выполняют три группы микроорганизмов: ацетогены (*Blautia spp.*, семейство *Lachnospiraceae*), сульфатредуцирующие

бактерии (*Desulfovibrio* spp.) и метаногены (археи *Methanobacteriaceae* — *Methanobrevibacter* и/или *Methanospaera*) [39]. В норме в образцах фекалий могут присутствовать как несколько групп, так и одна из них [40].

Основным метаболизатором муцина у детей старше двух лет и взрослых является *Akkermansia muciniphila* (филум *Verrucomicrobia*). *A. muciniphila* колонизирует слизистый слой толстого кишечника человека и способствует повышению его барьера функции. Благодаря *A. muciniphila* кишечный мукопептид расщепляется в основном на пропионовую и уксусную кислоты, которые становятся субстратом для *F. prausnitzii* — одного из основных продуцентов бутиратов, что способствует подавлению воспалительных процессов в кишечнике [41-42].

## УСЛОВНО-ПАТОГЕННАЯ МИКРОБИОТА (ПАТОБИОНТЫ) И МАРКЕРЫ ПАТОГЕННОСТИ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ

<i>Clostridium difficile</i> gr.  <i>Clostridioides difficile</i> tcdA, tcdB (маркеры патогенности)	<p><i>Clostridioides difficile</i> может продуцировать энтеротоксины A (tcdA) и B (tcdB), которые вызывают острое воспаление, повреждение кишечного барьера и приток жидкости. Обладает множественной устойчивостью к антибиотикам, вызывает внутрибольничную инфекционную диарею. Симптомы варьируют от легкой диареи до тяжелого колита и перфораций кишечника</p>	[25]
<i>C. perfringens</i> gr.	<p>Являются частью микробиоты кишечника у недоношенных новорожденных, у 30% из них они выявляются уже в отделении интенсивной терапии. Способны к продукции большого числа токсинов. <i>C. perfringens</i> gr. связывают с развитием некротизирующего энтероколита у недоношенных новорожденных, который часто заканчивается летально</p>	[25, 43, 44]
<i>Enterobacteriales</i>	<p>Рассматриваются как маркеры воспаления: наблюдается увеличение численности факультативных анаэробов из порядка <i>Enterobacterales</i> и снижение числа представителей нормобиоты. Представители <i>Enterobacterales</i> могут быть ассоциированы с синдромом раздраженного кишечника, воспалительными заболеваниями кишечника и некротизирующим энтероколитом</p>	[45-46]
<i>Enterococcus</i> spp.	<p>Включает в себя как комменсальные виды, так и виды, которые могут вызывать диарею у новорожденных. Комменсальные виды могут стимулировать иммунную систему и влиять на поддержание гомеостаза кишечника. <i>E. faecalis</i> и <i>E. faecium</i> являются наиболее распространенными видами, встречающимися у людей</p>	[47]
<i>Erysipelotrichaceae</i>	<p>Обладают высокой иммуногенностью, провоспалительным эффектом и, возможно, мультирезистентностью к antimикробным препаратам. Число представителей <i>Erysipelotrichaceae</i> значительно увеличивается при воспалительных заболеваниях кишечника</p>	[48-49]

<i>Staphylococcus spp.</i>	Заселяют кишечник новорожденных одними из первых, особенно у недоношенных детей. <i>Staphylococcus spp.</i> (обычно <i>S. epidermidis</i> ) составляет значительную часть микробиоты в раннем возрасте у детей, рожденных путем кесарева сечения	
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>tescA</i> (маркер метициллин-резистентности)	Представитель нормальной микробиоты кожи. При попадании в кишечник замедляет становление нормальной микробиоты. Может вызывать заболевания различной степени тяжести, вплоть до сепсиса. Штаммы, несущие ген <i>tescA</i> , обладают резистентностью к метициллину	[50]
<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>srr2</i>	Является частью нормальной микробиоты человека, однако штаммы <i>S. agalactiae</i> , несущие ген <i>srr2</i> , обладают повышенной вирулентностью. Продукт гена <i>srr2</i> способствует проникновению <i>S. agalactiae</i> в кровоток и далее в сосудистые оболочки мозга с развитием менингита	[51]
<i>Candida spp.</i>	Входят в микробиоту кишечника человека в норме и положительно коррелируют с преобладанием в диете углеводов	
<i>Candida albicans</i>	Встречается у 30-60% здоровых людей, может одновременно использовать разные субстраты, включая лактат и цитрат. Лечение антибиотиками способствует колонизации <i>C. albicans</i> . При определенных состояниях, таких как подавление иммунной системы и нарушение проницаемости стенки кишечника, могут развиваться инвазивные инфекции, в том числе внутрибольничные	[52-53]

Инфекция *C. difficile* является одной из основных причин внутрибольничной диареи и часто ассоциирована с антибактериальной терапией, при которой наблюдается снижение разнообразия кишечной микробиоты и уменьшение количества представителей филумов *Firmicutes*, *Bacteroidetes* и *Actinobacteria*. Частота носительства *C. difficile* у детей от трех лет и взрослых составляет порядка 0-3%. При этом у детей младше года частота носительства может достигать 61% [55]. У детей этой возрастной группы чаще встречаются нетоксигенные штаммы и отсутствие симптомов. Согласно одной из гипотез, это объясняется отсутствием у новорожденных рецепторов к энтеротоксину А [56]. По мере созревания иммунной системы ребенка *C. difficile* в норме вытесняется из состава кишечной микробиоты примерно к двум годам жизни.

# МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТАВА КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА



Стандартным методом исследования состава микробиоты человека является культуральный метод. Однако 50-80% микроорганизмов, составляющих кишечную микробиоту, являются труднокультивируемыми и не выявляются микробиологическим методом, кроме того, результаты посева напрямую зависят от сохранения жизнеспособности микроорганизмов. Посев кала на дисбактериоз предполагает выявление определенного спектра бактерий и грибов в отличие от стандартного посева, при котором происходит культивирование широкого перечня микроорганизмов на различных питательных средах [57]. В то же время исследование на дисбактериоз имеет ограничения, свойственные микробиологическому анализу в целом.



Метод секвенирования нового поколения (NGS) позволяет определять микроорганизмы с точностью до вида, а также вычислять соотношения между видами. Однако информация, получаемая с помощью NGS, часто избыточна и требует высококвалифицированных сотрудников для ее интерпретации, что затрудняет использование секвенирования как рутинного метода исследования. При этом именно по данным исследований NGS были определены таксоны, наиболее релевантные для повседневных исследований другими методами.



В настоящее время наиболее оптимальный подход для исследования микробиоты — применение ПЦР в реальном времени. Это точное и быстрое количественное определение микроорганизмов в образце с использованием видоспецифичных или группоспецифичных праймеров и последующей нормализацией полученных результатов на количество копий генов-мишеней. Многоприворочный и мультиплексный формат исследования позволяет сочетать выявление крупных таксонов с детекцией нескольких ключевых видов и/или субпопуляций микробиоты.

**В набор реагентов «Энтерофлор® Дети» входят таксоны, составляющие не менее 99,9% суммарной прокариотической массы фекалий ребенка. Согласно опубликованным данным были выделены функциональные таксономические группы, объединенные по основным метаболическим характеристикам и воздействию на организм хозяина. Таким образом, выявляемые в наборе реагентов «Энтерофлор® Дети» таксоны детализированы до уровня клинической значимости с учетом возраста ребенка**

**Набор реагентов Энтерофлор® Дети** предназначен для определения ДНК кишечно-ассоциированных микроорганизмов (отделы *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Euryarchaeota*), в том числе грибов рода *Candida*, а также гена метициллинрезистентности *Staphylococcus* spp. (*mecA*), *C. difficile* с генами энтеротоксинов А и В (*tcdA*, *tcdB*), *Str. agalactiae* с геном инвазивности (*srr2*) методом ПЦР в режиме реального времени в препаратах ДНК, полученных из образцов кала детей, с целью оценки состава микробиоты толстого кишечника

## ИССЛЕДОВАНИЕ РЕКОМЕНДУЕТСЯ

при необходимости определения качественного состава и количественной оценки микробиоты толстого кишечника в ходе проведения лечебно-диагностических мероприятий

## ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

фекалии (в том числе меконий)

## ОСОБЕННОСТИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

- Определение состояния микробиоты кишечника (нормобиоз/дисбиоз) с учетом долей нормобиоты и условно-патогенной микробиоты в общем количестве бактерий (ОБМ):
  - количественная оценка представителей нормобиоты (филумы *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*), условно-патогенной микробиоты и грибов рода *Candida*;
  - оценка разнообразия нормальной микробиоты;
  - определение количества бифидо- и лактобактерий;
  - определение видов бифидобактерий;
  - расчет соотношения *Firmicutes/Bacteroidetes*;
  - оценка присутствия представителей таксона *Bacteroidetes*;
  - определение факторов патогенности и резистентности: *mecA*, *srr2*, *tcdA*, *tcdB*.
- **Мультиплексный формат исследования** — в одной пробирке одновременно определяются несколько ДНК-мишеней;
- **Внутренний контроль** позволяет оценить качество выделения ДНК и прохождения ПЦР;
- **Автоматическое формирование бланка результатов** при использовании рекомендуемых амплификаторов серии ДТ и ПО RealTime\_PCR;
- **Наличие файлов с параметрами тестов** для автоматической установки необходимых настроек и расчета результатов.

# ПРИМЕР БЛАНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

## ЭНТЕРОФЛОР® ДЕТИ Результат исследования

ФИО:

ПОЛ:

ДАТА РОЖДЕНИЯ:

ДАТА ВЗЯТИЯ БИОМАТЕРИАЛА:

ИДЕНТИФИКАТОР КОНТЕЙНЕРА:

ВРАЧ:

### СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА

Статус: НОРМОБИОЗ (ЭУБИОЗ)

Доля нормальной микробиоты в пределах нормы – 94.7%. Общее количество бифидобактерий в пределах нормы – 7.4 Lg (ГЭ/г)\*. Таксономическое разнообразие нормальной микробиоты в пределах нормы – 11. Доля метаболически активных видов бифидобактерий в пределах нормы – более 10%. Представители Lactobacillaceae отсутствуют. Представители taxon Bacteroidetes присутствуют. Доля условно-патогенной микробиоты в пределах нормы – 5.3%. Присутствуют потенциально патогенные представители Enterobacteriales. Выявлен(ы) токсигенный штамм Clostridioides difficile количестве, превышающем пороговое значение. Количество дрожжевых грибов в пределах нормы – 6.1 Lg (ГЭ/г)\*.

ВАЖНО: интерпретация результатов должна производиться строго лечащим врачом

ПОКАЗАТЕЛЬ	РЕЗУЛЬТАТ	РЕФЕРЕНТНЫЙ ИНТЕРВАЛ	ЕДИНИЦА ИЗМЕРЕНИЯ
Общее количество бактерий (ОБМ)	8.3*	> 6	Lg (ГЭ/г)
Нормальная микробиота			
доля	94.7	≥ 80	%
разнообразие, количество таксонов	11	≥ 10	шт
Bifidobacterium spp.			
общее количество	7.4*	> 4.0	Lg (ГЭ/г)
метаболически активные виды, доля	> 10	≥ 10	%
метаболически активные «детские» виды, доля**		Не оценивается в данном возрасте	
метаболически активные «детские» виды, разнообразие		Не оценивается в данном возрасте	
Lactobacillaceae, количество	-	> 0.0	Lg (ГЭ/г)
Bacteroidetes, наличие	выявлено	выявлено	
Firmicutes/Bacteroidetes, соотношение	14.4	≥ 1.5	
Дрожжевые грибы, количество	6.1*	< 6.5	Lg (ГЭ/г)
Условно-патогенная микробиота (патобионты), доля	5.3	< 20	%
Маркеры патогенности и резистентности, наличие патогенные представители Enterobacteriales	ВЫЯВЛЕНО	не выявлено	
Clostridioides difficile	ВЫЯВЛЕНО	не выявлено	
cdtA, cdtB	ВЫЯВЛЕНО	не выявлено	
Staphylococcus aureus	не выявлено	не выявлено	
mecA	не выявлено	не выявлено	
Streptococcus agalactiae c srr2	не выявлено	не выявлено	
Candida albicans	не выявлено	не выявлено	

Дата выполнения исследования:

Исследование выполнил \_\_\_\_\_ ( Фамилия И.О.)

\* приведены значения Lg X – означает 10<sup>X</sup>

\*\* указано значение доли от суммы метаболически активных бифидобактерий

Страница 1 из 2

Описание бланка  
исследования  
Энтеофлор® Дети



ФИО:

ИДЕНТИФИКАТОР КОНТЕЙНЕРА:

ДАТА ВЗЯТИЯ БИОМАТЕРИАЛА:

ПОКАЗАТЕЛЬ	РЕЗУЛЬТАТ АБСОЛЮТНЫЙ, Ig (ГЭ/г кала)*	РЕЗУЛЬТАТ ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ, %
Общее количество бактерий	8.3	
<b>НОРМАЛЬНАЯ МИКРОБИОТА</b>	8.2	94.7
<b>Actinobacteria</b>		
Bifidobacterium spp	7.4	14.9
Метаболически активные виды бифидобактерий, доля		> 10
Метаболически активные «детские» виды**	6.3	22.1
Bifidobacterium longum subsp. infantis	-	-
Bifidobacterium longum subsp. longum	6.0	12.3
Bifidobacterium bifidum	5.9	9.8
Bifidobacterium breve	-	-
Метаболически активные «взрослые» виды**	6.8	77.9
Bifidobacterium adolescentis	6.8	77.7
Bifidobacterium catenulatum ssp	-	-
Bifidobacterium animalis subsp. lactis	-	-
Bifidobacterium dentium	4.2	0.2
Coriobacteria	6.9	4.7
<b>Firmicutes</b>		
Clostridium leptum gr	6.0	0.6
Dialister+Allisonella+Megasphaera+Veillonella	5.3	0.1
Faecalibacterium prausnitzii	4.3	< 0.1
Lachnospiraceae	8.0	59.3
Lactobacillaceae		-
Streptococcus spp	7.2	9.4
Lactococcus lactis	4.9	< 0.1
<b>Bacteroidetes</b>		
Alistipes spp	-	-
Bacteroides spp	6.9	4.7
Butyrimonas spp	-	-
Parabacteroides spp	-	-
Prevotella spp	5.2	0.1
<b>Другие бактерии</b>		
Akkermansia muciniphila	6.1	0.7
Desulfovibrio spp	-	-
Methanobrevibacter spp	-	-
Разнообразие, количество таксонов:	11	
Соотношение Firmicutes/Bacteroidetes:	14.4	
<b>УСЛОВНО-ПАТОГЕННАЯ МИКРОБИОТА (ПАТОБИОНЫ)</b>	7.0	5.3
Clostridium difficile gr	5.6	0.2
Clostridium perfringens gr	4.8	< 0.1
Enterobacteriales	6.9	4.7
E.coli	6.0	0.6
Enterococcus spp	5.4	0.1
Erysipelotrichaceae	5.5	0.2
Fusobacteriaceae	4.6	< 0.1
Peptoniphilaceae	-	-
Pseudomonas spp	-	-
Staphylococcus spp	-	-
<b>МАРКЕРЫ ПАТОГЕННОСТИ И РЕЗИСТЕНТНОСТИ</b>		
Clostridioides difficile	5.1	0.1
cdtA cdtB	5.0	
Staphylococcus aureus	-	-
mecA	-	-
Streptococcus agalactiae	-	-
srr2	-	-
<b>ДРОЖЖЕВЫЕ ГРИБЫ</b>		
Candida spp	6.1	
C.albicans	-	-

\* приведены значения Ig X – означает  $10^X$ 

\*\* указано значение доли от суммы метаболически активных бифидобактерий

Биоматериал	<ul style="list-style-type: none"> <li>Фекалии</li> <li>Меконий</li> </ul>	Хранение биоматериала	+2 °C ... + 8 °C до 3-х дней +18 °C ... +25 °C до 6 часов
Набор реагентов для предобработки биоматериала	ПРОБА-Л		
Наборы реагентов для пробоподготовки	<ul style="list-style-type: none"> <li>ПРОБА-МЧ МАКС</li> <li>ПРОБА-НК-ПЛЮС</li> </ul>		
Варианты фасовки	<ul style="list-style-type: none"> <li>Стандартная фасовка (Фасовка S, стрипы)</li> <li>Фасовка для автоматизированного дозирования (Фасовка А)</li> </ul>		
Оборудование	<p>Детектирующие амплификаторы</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>ДТпрайм *М*</li> <li>ДТпрайм *Х*</li> <li>ДТлайт</li> </ul>	Dозирующие устройства	<ul style="list-style-type: none"> <li>ДТстрим в комплектации*М1</li> <li>ДТстрим в комплектации*М4</li> </ul>
Аналитическая чувствительность	$5 \times 10^3$ копий/мл препарата ДНК		
Время анализа	От 3 часов (с учетом пробоподготовки)		
Количество анализируемых образцов	<ul style="list-style-type: none"> <li>12 определений для фасовки S, включая контрольные образцы</li> <li>24 определения для фасовки А, включая контрольные образцы</li> </ul>		



Специализированное ПО — автоматический обсчет результатов и формирование бланка ответа  
ПО RealTime PCR

[www.enteroflor.ru](http://www.enteroflor.ru)

+2°C ... +8 °C  
-18°C ... -22 °C  
12 месяцев

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

---

1. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body // PLoS biology. – 2016. – Т. 14. – №. 8. – С. e1002533.
2. Li J. et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome //Nature biotechnology. – 2014. – Т. 32. – №. 8. – С. 834-841.
3. Perez-Muñoz M. E. et al. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome //microbiome. – 2017. – Т. 5. – №. 1. – С. 1-19.
4. He Q. et al. The meconium microbiota shares more features with the amniotic fluid microbiota than the maternal fecal and vaginal microbiota //Gut Microbes. – 2020. – Т. 12. – №. 1. – С. 1794266.
5. Saturio S. et al. Role of bifidobacteria on infant health //Microorganisms. – 2021. – Т. 9. – №. 12. – С. 2415.
6. Li P. et al. Dynamic colonization of gut microbiota and its influencing factors among the breast-feeding infants during the first two years of life //Journal of Microbiology. – 2022. – С. 1-15.
7. Long G. et al. The Influence of Cesarean Section on the Composition and Development of Gut Microbiota During the First 3 Months of Life //Frontiers in Microbiology. – 2021. – С. 2343.
8. Zhang C. et al. The effects of delivery mode on the gut microbiota and health: State of art //Frontiers in Microbiology. – 2021. – Т. 12.
9. Stewart C. J. et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study //Nature. – 2018. – Т. 562. – №. 7728. – С. 583-588.
10. Wang M. et al. Fecal microbiota composition of breast-fed infants is correlated with human milk oligosaccharides consumed //Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. – 2015. – Т. 60. – №. 6. – С. 825-833.
11. Di Guglielmo M. D. et al. Impact of Early Feeding: Metagenomics Analysis of the Infant Gut Microbiome //Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2022. – С. 240.
12. Milani C. et al. The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota //Microbiology and molecular biology reviews. – 2017. – Т. 81. – №. 4. – С. e00036-17.
13. Tirone C. et al. Gut and lung microbiota in preterm infants: immunological modulation and implication in neonatal outcomes //Frontiers in immunology. – 2019. – Т. 10. – С. 2910.
14. Gibson M. K., Crofts T. S., Dantas G. Antibiotics and the developing infant gut microbiota and resistome //Current opinion in microbiology. – 2015. – Т. 27. – С. 51-56.
15. Sommer F. et al. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease //Nature Reviews Microbiology. – 2017. – Т. 15. – №. 10. – С. 630-638.
16. O’Callaghan A., Van Sinderen D. Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota //Frontiers in microbiology. – 2016. – Т. 7. – С. 925.
17. Saturio S. et al. Role of bifidobacteria on infant health //Microorganisms. – 2021. – Т. 9. – №. 12. – С. 2415.
18. Sakanaka M. et al. Varied pathways of infant gut-associated Bifidobacterium to assimilate human milk oligosaccharides: Prevalence of the gene set and its correlation with bifidobacteria-rich microbiota formation //Nutrients. – 2019. – Т. 12. – №. 1. – С. 71.
19. López P. et al. Treg-inducing membrane vesicles from Bifidobacterium bifidum LMG13195 as potential adjuvants in immunotherapy //Vaccine. – 2012. – Т. 30. – №. 5. – С. 825-829.
20. Lin C. et al. Intestinal ‘Infant-Type’Bifidobacteria Mediate Immune System Development in the First 1000 Days of Life //Nutrients. – 2022. – Т. 14. – №. 7. – С. 1498.
21. Ruiz L. et al. Bifidobacteria and their molecular communication with the immune system //Frontiers in Microbiology. – 2017. – Т. 8. – С. 2345.
22. Haarman M., Knol J. Quantitative real-time PCR assays to identify and quantify fecal Bifidobacterium species in infants receiving a prebiotic infant formula //Applied and environmental microbiology. – 2005. – Т. 71. – №. 5. – С. 2318-2324.
23. Ouwehand A. C. Differences in Bifidobacterium flora composition in allergic and healthy infants // J Allergy Clin Immunol. – 2001. – Т. 108. – С. 144-145.
24. Lopetuso L. R. et al. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis // Gut pathogens. – 2013. – Т. 5. – №. 1. – С. 1-8.
25. Guo P. et al. Clostridium species as probiotics: potentials and challenges //Journal of animal science and biotechnology. – 2020. – Т. 11. – №. 1. – С. 1-10.
26. Grenda T. et al. Probiotic Potential of Clostridium spp.—Advantages and Doubts //Current Issues in Molecular Biology. – 2022. – Т. 44. – №. 7. – С. 3118-3130.
27. Lopez-Siles M. et al. Faecalibacterium prausnitzii: from microbiology to diagnostics and prognostics // The ISME journal. – 2017. – Т. 11. – №. 4. – С. 841-852.
28. Lee G. et al. Distinct signatures of gut microbiome and metabolites associated with significant fibrosis in non-obese NAFLD //Nature communications. – 2020. – Т. 11. – №. 1. – С. 1-13.
29. Vacca M. et al. The controversial role of human gut lachnospiraceae //Microorganisms. – 2020. – Т. 8. – №. 4. – С. 573.

30. Azad M. et al. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: an overview //BioMed research international. – 2018. – Т. 2018.
31. Pasolli E. et al. Large-scale genome-wide analysis links lactic acid bacteria from food with the gut microbiome //Nature communications. – 2020. – Т. 11. – №. 1. – С. 1-12.
32. Marcobal A. et al. A refined palate: bacterial consumption of host glycans in the gut //Glycobiology. – 2013. – Т. 23. – №. 9. – С. 1038-1046.
33. Walther B. et al. Menaquinones, bacteria, and the food supply: the relevance of dairy and fermented food products to vitamin K requirements //Advances in nutrition. – 2013. – Т. 4. – №. 4. – С. 463-473.
34. Tett A. et al. Prevotella diversity, niches and interactions with the human host //Nature Reviews Microbiology. – 2021. – Т. 19. – №. 9. – С. 585-599.
35. Nakano V. et al. Intestinal Bacteroides and Parabacteroides species producing antagonistic substances //Microbiology. – 2006. – Т. 1. – С. 61-64.
36. Brown C. T. et al. Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes //PloS one. – 2011. – Т. 6. – №. 10. – С. e25792.
37. Kang S. et al. Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray //Inflammatory bowel diseases. – 2010. – Т. 16. – №. 12. – С. 2034-2042.
38. Lopez-Siles M. et al. Alterations in the abundance and co-occurrence of Akkermansia muciniphila and Faecalibacterium prausnitzii in the colonic mucosa of inflammatory bowel disease subjects //Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2018. – Т. 8. – С. 281.
39. Hylemon P. B., Harris S. C., Ridlon J. M. Metabolism of hydrogen gases and bile acids in the gut microbiome //FEBS letters. – 2018. – Т. 592. – №. 12. – С. 2070-2082.
40. McGarr S. E., Ridlon J. M., Hylemon P. B. Diet, anaerobic bacterial metabolism, and colon cancer: a review of the literature //Journal of clinical gastroenterology. – 2005. – Т. 39. – №. 2. – С. 98-109.
41. Szachta P., Bartnicka A., Gałecka M. Microbiota—a key to healing the gastrointestinal tract? //Pomeranian Journal of Life Sciences. – 2016. – Т. 62. – №. 1.
42. Macchione I. G. et al. Akkermansia muciniphila: key player in metabolic and gastrointestinal disorders //Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. – 2019. – Т. 23. – №. 18. – С. 8075-8083.
43. Shaw A. G. et al. Dynamics of toxicigenic Clostridium perfringens colonization in a cohort of prematurely born neonatal infants //BMC pediatrics. – 2020. – Т. 20. – №. 1. – С. 1-11.
44. Sim K. et al. Dysbiosis anticipating necrotizing enterocolitis in very premature infants //Clinical infectious diseases. – 2015. – Т. 60. – №. 3. – С. 389-397.
45. Shelton C. D., Byndloss M. X. Gut epithelial metabolism as a key driver of intestinal dysbiosis associated with noncommunicable diseases //Infection and Immunity. – 2020. – Т. 88. – №. 7. – С. e00939-19.
46. Litvak Y. et al. Dysbiotic Proteobacteria expansion: a microbial signature of epithelial dysfunction //Current opinion in microbiology. – 2017. – Т. 39. – С. 1-6.
47. Krawczyk B. et al. The many faces of Enterococcus spp. – Commensal, probiotic and opportunistic pathogen //Microorganisms. – 2021. – Т. 9. – №. 9. – С. 1900.
48. Kaakoush N. O. Insights into the role of Erysipelotrichaceae in the human host //Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2015. – Т. 5. – С. 84.
49. Louca P. et al. Gut microbiome diversity and composition is associated with hypertension in women //Journal of hypertension. – 2021. – Т. 39. – №. 9. – С. 1810.
50. Nowrouzian F. L. et al. Bacterial carriage of genes encoding fibronectin-binding proteins is associated with long-term persistence of Staphylococcus aureus in the nasal and gut microbiota of infants //Applied and Environmental Microbiology. – 2021. – Т. 87. – №. 15. – С. e00671-21.
51. de Cambronne R. D. et al. CCI7 group B Streptococcus exploits integrins for neonatal meningitis development //The Journal of clinical investigation. – 2021. – Т. 131. – №. 5.
52. Moran G., Coleman D., Sullivan D. An introduction to the medically important Candida species //Candida and candidiasis. – 2011. – С. 9-25.
53. Guinan J., Villa P., Thangamani S. Secondary bile acids inhibit Candida albicans growth and morphogenesis //Pathogens and disease. – 2018. – Т. 76. – №. 3. – С. fty038.
54. Vakili B. et al. Characterization of gut microbiota in hospitalized patients with Clostridioides difficile infection //Current Microbiology. – 2020. – Т. 77. – №. 8. – С. 1673-1680.
55. Antonara S., Leber A. L. Diagnosis of Clostridium difficile infections in children // Journal of clinical microbiology. – 2016. – Т. 54. – №. 6. – С. 1425-1433.
56. Eglov R. et al. Diminished Clostridium difficile toxin A sensitivity in newborn rabbit ileum is associated with decreased toxin A receptor //The Journal of clinical investigation. – 1992. – Т. 90. – №. 3. – С. 822-829.
57. Отраслевой Стандарт 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» Министерства Здравоохранения РФ.

# ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ ДЕТЕЙ

КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА ДЕТЕЙ



МИКРОСКОПИЯ



МИКРОСКОПИЯ



ЭНТЕРОФЛОР® Дети 99,9%





205-1 2023.01.20



ООО «ДНК-Технология»

[www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

[mail@dna-technology.ru](mailto:mail@dna-technology.ru)

+7 (495) 640-17-71

8 800 200 75 15 (Звонок по России бесплатный)