

Исследования микробиоты кишечника у обезьян разного возраста

В.И.Полякова, И.М.Аршба

Курчатовский комплекс медицинской приматологии ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт»,
Сочи, Российская Федерация

Изучение микробиоты толстого кишечника макак резусов является важным этапом подготовки для последующего моделирования воспалительных заболеваний кишечника и эффектов трансплантации фекальной микробиоты путем оценки состояния микробиоценоза толстого кишечника, выявления дисбиотических нарушений и отдельных клинически значимых патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, среди которых присутствуют некультивируемые облигатные анаэробы. Результаты исследования методом полимеразной цепной реакции в реальном времени показали, что нет существенных количественных различий в микробиоте толстого кишечника клинически здоровых макак резусов в разных возрастных группах. Представители нормальной микробиоты кишечника доминируют во всех возрастных группах. Выявлены условно-патогенные микроорганизмы, патогенные микроорганизмы отсутствуют. Среди некультивируемых анаэробов выявлены микроорганизмы – генетические маркеры состояния микробиоты кишечника у человека: *Akkermansia muciniphila*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, а также *Faecalibacterium prausnitzii*, обладающие противовоспалительными свойствами. Микробиота кишечника обезьян, обладая высоким сходством с микробиотой человека, позволяет использовать данных лабораторных животных как объект для безопасного и эффективного проведения трансплантации фекальной микробиоты.

Ключевые слова: обезьяны, макак резус, микробиота кишечника, биологическая модель, Колонофлор-16

Для цитирования: Полякова В.И., Аршба И.М. Исследования микробиоты кишечника у обезьян разного возраста. Бактериология. 2024; 9(1): 46–51. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-1-46-51

Studies of gut microbiota in monkeys of different ages

V.I.Polyakova, I.M.Arshba

Kurchatov complex of medical primatology of FSBI NRC “Kurchatov Institute”, Sochi, Russian Federation

The study of the microbiota of the large intestine of rhesus macaques is an important stage of preparation for subsequent modeling of inflammatory bowel diseases and the effects of fecal microbiota transplantation, by assessing the state of the microbiocenosis of the large intestine, identifying dysbiotic disorders and certain clinically significant pathogenic and opportunistic microorganisms, including unculturable obligate anaerobes. The results of a real-time PCR study showed that there are no significant quantitative differences in the colon microbiota of clinically healthy rhesus macaques in different age groups. Representatives of the normal gut microbiota dominate in all age groups. Opportunistic microorganisms were identified, pathogenic microorganisms were absent. Among uncultivable anaerobes, microorganisms were identified – genetic markers of the state of the human intestinal microbiota: *Akkermansia muciniphila*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, as well as *Faecalibacterium prausnitzii*, which have anti-inflammatory properties. The gut microbiota of monkeys, being highly similar to the human microbiota, makes it possible to use these laboratory animals as an object for safe and effective fecal microbiota transplantation.

Key words: monkeys, rhesus monkeys, gut microbiota, biological model, Colonoflor-16

For citation: Polyakova V.I., Arshba I.M. Studies of gut microbiota in monkeys of different ages. Bacteriology. 2024; 9(1): 46–51. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-1-46-51

Значительный прогресс в области изучения кишечной микробиоты основан на следующих методах молекулярной биологии: полимеразная цепная реакция (ПЦР), полногеномное секвенирование и секвенирование генов с использованием консервативной 16S рРНК. Эти исследования раскрыли перспективы для обнаружения некультивируемых бактерий и уже сегодня значительно продвинули знания

о кишечном микробиоме (бактерии и их геном), а также выявили значимые ассоциации между присутствием определенных групп/видов микроорганизмов и наличием патологии [1–3].

В настоящее время в лечении ряда заболеваний проводятся попытки применения метода трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ). Вследствие филогенетического

Для корреспонденции:

Полякова Вероника Игоревна, младший научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии ФГБУ «Курчатовский комплекс медицинской приматологии» НИЦ «Курчатовский институт»

Адрес: 354376, г.о. Сочи, с. Весёлое, ул. Мира, 177, к.1

Статья поступила 30.11.2023, принята к печати 29.03.2024

For correspondence:

Veronika I. Polyakova, Junior researcher, Laboratory of Infectious Pathology, FSBI Kurchatov complex of medical primatology of NRC “Kurchatov Institute”

Address: 177k1 Mira str., Vesolyoye village, Sochi urban district, Krasnodar region, 354376, Russian Federation

The article was received 30.11.2023, accepted for publication 29.03.2024

родства обезьяны являются незаменимой экспериментальной моделью для испытания эффективности и безопасности вакцин, биопрепаратов, новых лекарственных средств и воспроизведения различных патологических состояний человека. Микробиота кишечника обезьян обладает высоким сходством с микробиотой человека, модулирует метаболизм хозяина, особенности иммунного ответа и является индикатором состояния макроорганизма. Проведение медико-биологических исследований, особенно в области воспроизведения моделей заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), требует уточнения информации о вариативности микробиоты кишечника обезьян с привлечением данных генетического и метагеномного анализа. В качестве эталона для исследований микробиоты кишечника используются обезьяны вида макак резус [4].

Цель работы: изучение особенностей микробиоты толстого кишечника макак резусов в четырех возрастных группах для последующего моделирования воспалительных заболеваний кишечника и эффектов трансплантации фекальной микробиоты.

Материалы и методы

Исследование по определению количественного состава микробиоты толстого кишечника проводилось на 48 клинически здоровых макаках резусах в четырех возрастных группах, содержащихся в Курчатовском комплексе медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт» (табл. 1).

Разделение на 4 возрастные группы было обусловлено влиянием различных факторов на микробиоту кишечника. В течение первого года жизни ведущим фактором в формировании микробиоты кишечника обезьян можно считать грудное или искусственное вскармливание; введение прикорма и постепенный переход к сбалансированному питанию, аналогичному для взрослых особей (гранулированный корм из продуктов растительного и животного происхождения, дополненный минеральными солями и витаминами). Дополнительно к гранулированному корму добавляют сочный корм (зелень, овощи, фрукты), также в рацион входят хлеб и яйца, что существенно сказывается на микробиоте подростков животных 1–3 лет. Молодые особи заслуживают внимания ввиду запуска активных процессов роста и полового созревания. У старых особей происходят значительные изменения в работе ЖКТ в связи с физиологическим старением организма.

Обезьяны находились в специальном помещении для содержания животных в индивидуальных клетках, оборудован-

ных кормушками и автоматическими поилками. Под каждой клеткой были установлены металлические поддоны для сбора фекальных образцов.

Сбор материала (фекальных образцов) проводили по утрам, после уборки помещений и мытья поддонов. Материал в стерильных контейнерах доставляли в лабораторию для дальнейшего исследования.

Предварительную обработку фекальных образцов проводили в соответствии с методическими указаниями «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» МУ 1.3.2569-09, Москва, 2009.

Приготовление фекальной суспензии

В микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл вносили 0,8 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. В каждую пробирку отдельным наконечником с фильтром или одноразовыми лопатками вносили 0,1 г фекалий и тщательно ресуспендировали на вортексе до образования гомогенной суспензии.

Приготовление бактериальной фракции фекалий для выявления бактериальных агентов

Для приготовления бактериальной фракции фекалий использовали свежеприготовленную суспензию фекалий. Пробирки с суспензией (водянистыми фекалиями) центрифугировали при 12000 g в течение 5 мин на центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия). Отдельным наконечником с фильтром из каждой пробирки отбирали бактериальную фракцию в объеме 0,1 мл (верхняя бело-желтая часть образовавшегося осадка). Отобранную часть пробы, содержащую высокую концентрацию бактерий, переносили в новую микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл. Хранили при температуре -20°C в течение недели и при температуре -70°C длительно [5].

Выделение тотальной ДНК из фекальных образцов проводили при использовании комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» в соответствии с инструкцией (AmpliSens, ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора).

Бактериальное разнообразие кишечной микробиоты устанавливали методом ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с применением набора реагентов «Колонофлор-16 (биоценоз)» (ООО «АльфаЛаб», Россия) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories Inc., США).

Статистическую обработку данных и расчеты осуществляли при помощи программы GraphPad Prism 8.

Для оценки достоверности различий по частоте обнаружения разных типов дисбиоза/микроорганизмов в отдельных возрастных группах использовали критерий χ^2 . Все различия интерпретировали как достоверные при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования показали, что представители нормальной микробиоты толстого кишечника человека – *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli* и *Bacteroides* spp. – характеризуются высокой частотой обнаружения во всех возрастных группах (табл. 2). *Enterococcus* spp. встречается со статически значимой частотой – 91,7% случаев у подростков, данный показатель намного выше, чем у детены-

	Группа I / Group I	Группа II / Group II	Группа III / Group III	Группа IV / Group IV
Возраст / Age	детеныши (до 1 года) / Cubs (up to 1 year)	подростки (1–3 года) / teenagers (1–3 years)	молодые особи (от 4 до 7 лет) / young animals (4–7 years)	старые особи (17–26 лет) / old animals (17–26 years)
Кол-во / Quantity	12	12	12	12

Таблица 2. Частота обнаружения представителей нормальной микрофлоры кишечника человека в четырех возрастных группах макак резусов

Table 2. Frequency of detection of representatives of normal human intestinal microflora in four age groups of rhesus macaques

Вид микроорганизмов / Type of microorganisms	Группа I / Group I	Группа II / Group II	Группа III / Group III	Группа IV / Group IV	p*	Всего (n = 48)
<i>Lactobacillus</i> spp.	100%	100%	100%	100%	-	100%
<i>Bifidobacterium</i> spp.	100%	100%	100%	100%	-	100%
<i>Escherichia coli</i>	100%	100%	100%	100%	-	100%
<i>Bacteroides</i> spp.	100%	100%	91,7%	100%	0,3819	97,9%
<i>Enterococcus</i> spp.	25%	91,7%	33,3%	25%	0,0017	43,75%

*p < 0,05, критерий χ^2 (достоверность различий по частоте обнаружения микроорганизмов в отдельных возрастных группах).
 *p < 0.05, χ^2 test (significance of differences in the frequency of detection of microorganisms in individual age groups).

Таблица 3. Частота обнаружения условно-патогенных микроорганизмов микрофлоры кишечника человека в четырех возрастных группах макак резусов (>10⁴ копий/мл)

Table 3. Frequency of detection of opportunistic microorganisms of human intestinal microflora in four age groups of rhesus monkeys (>10⁴ copies/ml)

Вид микроорганизмов / Type of microorganisms	Группа I / Group I	Группа II / Group II	Группа III / Group III	Группа IV / Group IV	p*	Всего (n = 48)
<i>Klebsiella</i> spp.	25%	25%	25%	25%	>0,9999	25%
<i>Citrobacter</i> spp.	33,3%	16,6%	16,6%	-	0,1870	16,6%
<i>Enterobacter</i> spp.	75%	41,6%	8,3%	41,6%	0,0119	41,6%
<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	25%	33,3%	33,3%	33,3%	0,9617	31,25%
<i>Staphylococcus aureus</i>	66,6%	66,6%	33,3%	75%	0,1618	60,4%
<i>Candida</i> spp.	8,3%	8,3%	8,3%	8,3%	>0,9999	8,3%

*p < 0,05, критерий χ^2 (достоверность различий по частоте обнаружения микроорганизмов в отдельных возрастных группах).
 *p < 0.05, χ^2 test (significance of differences in the frequency of detection of microorganisms in individual age groups).

Таблица 4. Частота обнаружения анаэробных микроорганизмов микрофлоры кишечника человека в четырех возрастных группах макак резусов

Table 4. Frequency of detection of anaerobic microorganisms of the human intestinal microflora in four age groups of rhesus macaques

Вид микроорганизмов / Type of microorganisms	Группа I / Group I	Группа II / Group II	Группа III / Group III	Группа IV / Group IV	p*	Всего (n = 48)
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	100%	100%	100%	100%	-	100%
<i>Bacteroides thetaomicron</i>	-	-	8,3%	16,6%	0,2712	6,25%
<i>Akkermansia muciniphila</i>	-	8,3%	8,3%	41,6%	0,0197	14,6%
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	25%	16,6%	33,3%	33,3%	0,7625	27,1%
<i>Parvimonas micra</i>	58,3%	66,6%	25%	58,3%	0,1774	43,75%
<i>Clostridium difficile</i>	16,6%	16,6%	25%	16,6%	0,9381	18,75%
<i>Clostridium perfringens</i>	33,3%	33,3%	33,3%	33,3%	>0,9999	33,3%

*p < 0,05, критерий χ^2 (достоверность различий по частоте обнаружения микроорганизмов в отдельных возрастных группах).
 *p < 0.05, χ^2 test (significance of differences in the frequency of detection of microorganisms in individual age groups).

шей до года (25%). Это связано с тем, что заселение микрофлоры происходит более активно у детей на естественном вскармливании, а обследуемые детеныши находятся на искусственном [4]. Энтерококки играют иммуностимулирующую роль в микробиоте кишечника, снижение частоты обнаружения энтерококков у молодых и старых особей свидетельствует о дисбиозе.

Среди условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) обнаружены *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Clostridium difficile* и *Clostridium perfringens*, а также дрожжеподобные грибы рода *Candida*, которые являются этиологическим фактором развития воспалительных заболеваний кишечника, а также индикатором иммунодефицитных состояний (табл. 3).

Род *Klebsiella* был выявлен с одинаковой частотой (25%) во всех возрастных группах. При дисбиозе у людей часто наблюдаются ассоциации клебсиелл с другими микроорганизмами [6, 7, 8], такими как *Staphylococcus aureus* с высокой частотой обнаружения в группах I, II и IV, реже – с грибами рода *Candida*, частота обнаружения которых составила 8,3% во всех группах.

Микробы рода *Citrobacter* у детенышей до года встречаются чаще (33,3%), чем у подростков и молодых особей (16,6%). Микробы рода *Enterobacter* характеризуется статистически значимой частотой обнаружения у детенышей – 75%. Данные виды микроорганизмов часто являются причиной острого гастроэнтерита у детей и подростков [8]. *Proteus* spp., наоборот, встречается реже у детенышей

Таблица 5. Частота выявления нормального соотношения микробиоты и дисбиозов кишечника у обследованных макак резусов
 Table 5. Frequency of detection of a normal ratio of microbiota and intestinal dysbiosis in the examined rhesus macaques

Тип дисбиоза / Type of dysbiosis	Группа I / Group I	Группа II / Group II	Группа III / Group III	Группа IV / Group IV	<i>p</i> *	Всего (<i>n</i> = 48)
Норма / Norm	-	-	-	8,3%	0,3819	2,1%
Увеличение числа УПМ** / Increasing the number of UPM	91,7%	91,7 %	50%	75%	0,0481	77,1%
Снижение содержания лактобактерий без увеличения числа УПМ / Reducing the content of lactobacilli without increasing the number of UPM	-	-	8,3%	-	0,3819	2,1%
Снижение содержания лактобактерий с увеличением числа УПМ / Decrease in the content of lactobacilli with an increase in the number of UPM	8,3%	8,3%	33,3%	8,3%	0,2109	14,6%
Снижение содержания бифидобактерий и лактобактерий / Reduced content of bifidobacteria and lactobacilli	-	-	8,3%	-	0,3819	2,1%
Анаэробный дисбаланс без увеличения числа УПМ / Anaerobic imbalance without increasing the number of UPM	-	-	-	-	-	-
Анаэробный дисбаланс с ростом числа УПМ / Anaerobic imbalance with increasing number of UPM	-	-	-	8,3%	0,3819	2,1%

**p* < 0,05, критерий χ^2 (достоверность различий по частоте обнаружения разных типов дисбиоза в отдельных возрастных группах);
 **УПМ – уропатогенные микроорганизмы.
 **p* < 0.05, χ^2 test (significance of differences in the frequency of detection of different types of dysbiosis in individual age groups);
 **UPM – uropathogenic microorganisms.

(25%), чем во всех остальных группах с частотой обнаружения 33,3%.

В табл. 4 представлены анаэробные микроорганизмы, некоторые из которых являются генетическими маркерами состояния микробиоты кишечника у человека.

Анаэробные грамположительные кокки *Akkermansia muciniphila*, которые, регулируя проницаемость стенки кишечника и взаимодействуя с соседними клетками, нормализуют метаболизм, препятствуют ожирению и развитию сахарного диабета у людей [9], обнаружены лишь в 8,3% случаев у подростков и молодых обезьян, в отличие от старых особей (41,6%) со статистически значимой частотой.

Fusobacterium nucleatum, рост которых коррелирует с развитием колоректального рака у людей [10–12], чаще встречается у молодых и старых особей (33,3%). *Parvimonas micra*, ранний маркер канцерогенеза толстого кишечника у людей [9, 13], чаще встречается в группе II (66,6%).

Существуют бактерии с противоположным действием. Продуценты короткоцепочечной жирной кислоты бутирата – *Faecalibacterium prausnitzii*, обладающие противовоспалительными свойствами [14, 15], а также являющиеся хорошо известными продуцентами бактериоцинов [16], – выявлены у во всех животных во всех возрастных группах обезьян.

Bacteroides thetaomicronn, входящие в особую группу *Bacteroides fragilis*, являются представителями нормальной микробиоты ЖКТ у людей [17], обладают противовоспалительными свойствами, которые способствуют усилению барьерной функции слизистой оболочки кишечника и ограничению инвазии патогенных микроорганизмов [18–20], и характеризуются невысокой частотой обнаружения в группе III и IV.

Как показывают проведенные ранее исследования, анаэробные спорообразующие палочки рода *Clostridium* являются представителями микробиоты толстого кишечника у обезьян [21]. *Clostridium perfringens* обнаружены во всех возрастных группах с частотой 33,3%. Выявление *Clostridium difficile* при отсутствии клинической симптоматики рассматривается как носительство [8].

Используемая тест-система «Колонофлор-16 (биоценоз)» позволяет автоматически сформировать заключение по количественному составу микроорганизмов и определить следующие состояния и клинически значимые изменения в микробиоте толстой кишки [22]:

1) отсутствие нарушений в составе микробиоты толстой кишки (соответствие количества выявляемых представителей нормальной микробиоты референтным значениям, заявленным в тест-системе «Колонофлор-16 (биоценоз)», выявление УПМ в допустимых значениях и отсутствие патогенных микроорганизмов);

2) снижение содержания облигатных представителей микробиоценоза (бифидобактерий и/или лактобактерий) без увеличения количества сапрофитной или условно-патогенной микрофлоры;

3) снижение содержания бифидобактерий, сочетающееся с выраженными изменениями в аэробной микрофлоре – снижением лактобактерий, появлением энтеропатогенных форм кишечной палочки, обнаружением одного или нескольких представителей патогенных микроорганизмов в высоких титрах;

4) обнаружение в фекальных образцах в диагностически значимых количествах (>10⁴), грибов рода *Candida* и условно-патогенных бактерий (*Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *S. aureus*, *C. difficile*, *C. perfringens*);

5) значительное снижение числа *F. prausnitzii* и, соответственно, изменение количественного соотношения *B. fragilis* / *F. prausnitzii* (анаэробный дисбаланс) (табл. 5).

Самым распространенным, статистически значимым типом дисбиоза во всех возрастных группах является рост УПМ и грибов рода *Candida* в диагностически значимых количествах (>10⁴).

В группах I и II частота увеличения числа УПМ составила 91,7%.

В группе III самой частой формой дисбиоза является увеличение числа УПМ (50%), а также снижение количества лактобактерий с увеличением числа УПМ (33,3%).

В группе 4, помимо увеличения числа УПМ (75%), также было обнаружено увеличение числа УПМ, включавшее снижение количества лактобактерий (8,3%) или анаэробный дисбаланс (8,3%).

Выводы

1. Результаты исследования показали, что нет существенных количественных различий в микробиоте толстого кишечника клинически здоровых макак резусов в разных возрастных группах.

2. Представители анаэробной и факультативно-анаэробной нормальной микробиоты кишечника доминируют во всех возрастных группах, что является одним из ключевых факторов полноценного и адекватного становления иммунитета.

3. Самым распространенным типом дисбиоза является рост УПМ. Частота обнаружения некоторых видов достигает 75%, что на фоне снижения иммунитета у обезьян потенциально может представлять угрозу возникновения различных патологических процессов в кишечнике.

4. Патогенные микроорганизмы не обнаружены.

5. Среди некультивируемых анаэробов выявлены микроорганизмы – генетические маркеры состояния микробиоты кишечника у человека (*A. muciniphila*, *Parvimonas micra*, *F. nucleatum*).

6. *F. prausnitzii* – доминирующий вид бактерий у человека среди некультивируемых анаэробов. Также выявлен у макак резусов, высокая частота обнаружения указывает на отсутствие нарушений состояния местного иммунитета кишечника.

7. Микробиота кишечника обезьян, обладая высоким сходством с микробиотой человека, позволяет использовать данных лабораторных животных как объект для безопасного и эффективного проведения трансплантации фекальной микробиоты.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования.

Financial support

The work was carried out within the framework of budget financing.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Loftus M, Hassounah SA, Yooseph S. Bacterial community structure alterations within the colorectal cancer gut microbiome. BMC Microbiol. 2021 Mar 31;21(1):98. DOI: 10.1186/s12866-021-02153-x
2. Tang MS, Poles J, Leung JM, Wolff MJ, Davenport M, Lee SC, et al. Inferred metagenomic comparison of mucosal and fecal microbiota from individuals undergoing routine screening colonoscopy reveals similar differences observed

during active inflammation. Gut Microbes. 2015;6(1):48-56. DOI: 10.1080/19490976.2014.1000080
3. Zhang YJ, Li S, Gan RY, Zhou T, Xu DP, Li HB. Impacts of gut bacteria on human health and diseases. Int J Mol Sci. 2015 Apr 2;16(4):7493-519. DOI: 10.3390/ijms16047493
4. Иммунобиологические препараты и перспективы их применения в инфектологии. Под ред. Онищенко ГГ, Алёшкина ВА, Афанасьева СС, Поспеловой ВВ. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002.
5. МУ 1.3.2569-09 Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности.
6. Бондаренко ВМ, Мацулевич ТВ. Дисбактериоз кишечника как клиничко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. М.: ГЭОТАР-медиа, 2007.
7. Отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004-12. 2003. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. Утв. 09.06.03.
8. Приложение к инструкции набора реагентов для исследования микробиоты толстого кишечника методом полимеразой цепной реакции с флуоресцентной детекцией в реальном времени «КОЛОНОФЛОР-16 (биоценоз), (ООО «АЛЬФАЛАБ»)).
9. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Атлас руководства: Учебное пособие. Под ред. Быкова АС, Зверева ВВ. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2018.
10. McCoy AN, Araújo-Pérez F, Azcárate-Peril A, Yeh JJ, Sandler RS, Keku TO. *Fusobacterium* is associated with colorectal adenomas. PLoS One. 2013;8(1):e53653. DOI: 10.1371/journal.pone.0053653
11. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum* – symbiont, opportunist and oncobacterium. Nat Rev Microbiol. 2019 Mar;17(3):156-166. DOI: 10.1038/s41579-018-0129-6
12. Zhang X, Zhu X, Cao Y, Fang JY, Hong J, Chen H. Fecal *Fusobacterium nucleatum* for the diagnosis of colorectal tumor: A systematic review and meta-analysis. Cancer Med. 2019 Feb;8(2):480-491. DOI: 10.1002/cam4.1850
13. Osman MA, Neoh H-M, Ab Mutalib N-S, Chin SF, Mazlan L, Ali RAR, et al. *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcus stomatis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Akkermansia muciniphila* as a four-bacteria biomarker panel of colorectal cancer. Sci Rep. 2021 Feb 3;11(1):2925. DOI: 10.1038/s41598-021-82465-0
14. Guo S, Li L, Xu B, Li M, Zeng Q, Xiao H, et al. A Simple and Novel Fecal Biomarker for Colorectal Cancer: Ratio of *Fusobacterium nucleatum* to Probiotics Populations, Based on Their Antagonistic Effect. Clin Chem. 2018 Sep;64(9):1327-1337. DOI: 10.1373/clinchem.2018.289728
15. Lopez-Siles M, Duncan SH, Garcia-Gil LJ, Martinez-Medina M. *Faecalibacterium prausnitzii*: from microbiology to diagnostics and prognostics. ISME J. 2017 Apr;11(4):841-852. DOI: 10.1038/ismej.2016.176
16. Zagato E, Pozzi C, Bertocchi A, Schioppa T, Saccheri F, Guglietta S, et al. Endogenous murine microbiota member *Faecalibaculum rodentium* and its human homologue protect from intestinal tumour growth. Nat Microbiol. 2020 Mar;5(3):511-524. DOI: 10.1038/s41564-019-0649-5
17. Литусов НВ. Род *Bacteroides*. Иллюстрированное учебное пособие. Екатеринбург: ФГБОУ ВО УГМУ, 2017.
18. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. Science. 2001 Feb 2;291(5505):881-4. DOI: 10.1126/science.291.5505.881
19. Kelly D, Campbell JI, King TP, Grant G, Jansson EA, Coutts AG, et al. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. Nat Immunol. 2004 Jan;5(1):104-12. DOI: 10.1038/ni1018
20. Wrzosek L, Miquel S, Noordine ML, Bouet S, Joncquel Chevalier-Curt M, Robert V, et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic

- epithelium of a gnotobiotic model rodent. BMC Biol. 2013 May 21;11:61. DOI: 10.1186/1741-7007-11-61
21. Стасилевич ЗК, Джикидзе ЭК, Калашникова ВА, Султанова ОА. Изучение роли анаэробных бактерий в кишечной патологии обезьян. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013;156(8):215.
 22. Проценко ДА, Зорников ДЛ, Ворошилина ЕС. Результаты оценки микробиоты кишечника людей разных возрастных групп с использованием ПЦР-системы «Колонофлор-16». Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения. Материалы VII Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. Екатеринбург, 17-18 мая 2022 г. Екатеринбург: УГМУ, 2022;1843-1849.
- ## References
1. Loftus M, Hassounah SA, Yooseph S. Bacterial community structure alterations within the colorectal cancer gut microbiome. BMC Microbiol. 2021 Mar 31;21(1):98. DOI: 10.1186/s12866-021-02153-x
 2. Tang MS, Poles J, Leung JM, Wolff MJ, Davenport M, Lee SC, et al. Inferred metagenomic comparison of mucosal and fecal microbiota from individuals undergoing routine screening colonoscopy reveals similar differences observed during active inflammation. Gut Microbes. 2015;6(1):48-56. DOI: 10.1080/19490976.2014.1000080
 3. Zhang YJ, Li S, Gan RY, Zhou T, Xu DP, Li HB. Impacts of gut bacteria on human health and diseases. Int J Mol Sci. 2015 Apr 2;16(4):7493-519. DOI: 10.3390/ijms16047493
 4. Immunobiological preparations and prospects for their use in infectology. Ed. Onishchenko GG, Aleshkin VA, Afanasyev SS, Pospelova VV. Moscow: State Educational Establishment VUNMC Ministry of Health of the Russian Federation, 2002. (In Russian).
 5. MU 1.3.2569 – 09 Organization of the work of laboratories using nucleic acid amplification methods when working with material containing microorganisms of pathogenicity groups I–IV. (In Russian).
 6. Bondarenko VM, Matsulevich TV. Intestinal dysbiosis as a clinical and laboratory syndrome: current state of the problem. Moscow: GEOTAR-media Publ., 2007. (In Russian).
 7. Industry standard OST 91500.11.0004-12. 2003. Protocol for patient management. Intestinal dysbiosis. Approved. 06/09/03. (In Russian).
 8. Appendix to the instructions for a set of reagents for studying the microbiota of the large intestine using the polymerase chain reaction method with real-time fluorescent detection COLONOFLOOR-16 (biocenosis) (ALFALAB LLC). (In Russian).
 9. Medical microbiology, virology and immunology. Atlas manual. Textbook. Ed. Bykov AS, Zverev VV. M.: Publishing House Medical Information Agency LLC, 2018. (In Russian).
 10. McCoy AN, Araújo-Pérez F, Azcárate-Peril A, Yeh JJ, Sandler RS, Keku TO. *Fusobacterium* is associated with colorectal adenomas. PLoS One. 2013;8(1):e53653. DOI: 10.1371/journal.pone.0053653
 11. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum* – symbiont, opportunist and oncobacterium. Nat Rev Microbiol. 2019 Mar;17(3):156-166. DOI: 10.1038/s41579-018-0129-6
 12. Zhang X, Zhu X, Cao Y, Fang JY, Hong J, Chen H. Fecal *Fusobacterium nucleatum* for the diagnosis of colorectal tumor: A systematic review and meta-analysis. Cancer Med. 2019 Feb;8(2):480-491. DOI: 10.1002/cam4.1850
 13. Osman MA, Neoh H-M, Ab Mutalib N-S, Chin SF, Mazlan L, Ali RAR, et al. *Parvimonas micra*, *Peptostreptococcus stomatis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Akkermansia muciniphila* as a four-bacteria biomarker panel of colorectal cancer. Sci Rep. 2021 Feb 3;11(1):2925. DOI: 10.1038/s41598-021-82465-0
 14. Guo S, Li L, Xu B, Li M, Zeng Q, Xiao H, et al. A Simple and Novel Fecal Biomarker for Colorectal Cancer: Ratio of *Fusobacterium nucleatum* to Probiotics Populations, Based on Their Antagonistic Effect. Clin Chem. 2018 Sep;64(9):1327-1337. DOI: 10.1373/clinchem.2018.289728
 15. Lopez-Siles M, Duncan SH, Garcia-Gil LJ, Martinez-Medina M. *Faecalibacterium prausnitzii*: from microbiology to diagnostics and prognostics. ISME J. 2017 Apr;11(4):841-852. DOI: 10.1038/ismej.2016.176
 16. Zagato E, Pozzi C, Bertocchi A, Schioppa T, Saccheri F, Guglietta S, et al. Endogenous murine microbiota member *Faecalibaculum rodentium* and its human homologue protect from intestinal tumour growth. Nat Microbiol. 2020 Mar;5(3):511-524. DOI: 10.1038/s41564-019-0649-5
 17. Litusov NV. Genus *Bacteroides*. Illustrated textbook. Ekaterinburg: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education USMU, 2017. (In Russian).
 18. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. Science. 2001 Feb 2;291(5505):881-4. DOI: 10.1126/science.291.5505.881
 19. Kelly D, Campbell JI, King TP, Grant G, Jansson EA, Coutts AG, et al. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. Nat Immunol. 2004 Jan;5(1):104-12. DOI: 10.1038/ni1018
 20. Wrzosek L, Miquel S, Noordine ML, Bouet S, Joncquel Chevalier-Curt M, Robert V, et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. BMC Biol. 2013 May 21;11:61. DOI: 10.1186/1741-7007-11-61
 21. Stasilevich ZK, Dzhikidze EK, Kalashnikova VA, Sultanova OA. Study of the role of anaerobic bacteria in the intestinal pathology of monkeys. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2013;156(8):215. (In Russian).
 22. Proshchenko DA, Zornikov DL, Voroshilina ES. Results of assessing the intestinal microbiota of people of different age groups using the Colonoflor-16 PCR system. Current issues of modern medicine science and healthcare: materials of the VII International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students. Ekaterinburg, May 17-18, 2022. Ekaterinburg: USMU, 2022;1843-1849. (In Russian).

Информация о соавторе:

Аршба Илона Мурмановна, кандидат биологических наук, и.о. начальника лаборатории инфекционной патологии, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Курчатовский комплекс медицинской приматологии» НИЦ «Курчатовский институт»

Information about co-author:

Ilona M. Arshba, PhD in Biological Sciences, Acting Head of the Laboratory of Infectious Pathology, Leading Researcher, FSBI "Kurchatov complex of medical primatology" of NRC "Kurchatov Institute"