



Преимущества и недостатки различных методов диагностики нарушений микробиоты кишечника*

Огай М.¹, Фоминых Ю.А.^{1,2}, Наджафова К.Н.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России, (ул. Аккуратова, д. 2, г. Санкт-Петербург, 197341, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (ул. Литовская, 2, Санкт-Петербург, 194100, Россия)

Для цитирования: Огай М., Фоминых Ю.А., Наджафова К.Н. Преимущества и недостатки различных методов диагностики нарушений микробиоты кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2025;(2): 179–186 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-234-2-179-186

✉ **Для переписки:**

Кямаля

Низамитдиновна

Наджафова

kyamalyok@yandex.ru

Огай Максим, клинический ординатор первого года обучения кафедры пропедевтики внутренних болезней с клиникой **Фоминых Юлия Александровна**, д.м.н., заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней с клиникой; профессор кафедры факультетской терапии имени проф. В.А. Вальдмана **Наджафова Кямаля Низамитдиновна**, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней с клиникой

Резюме

В статье рассматриваются современные методы диагностики нарушений микробиоты кишечника, включая культуральные, молекулярно-генетические и хроматографические подходы. Подчёркиваются их преимущества и недостатки, а также клиническая значимость. Важным шагом стало принятие международного консенсуса, стандартизовавшего подходы к диагностике микробиома. В статье обосновывается необходимость выбора метода в зависимости от целей исследования и клинических условий, учитывая точность, доступность и стоимость.

EDN: FBLCUW



Ключевые слова: микробиота, диагностика, кишечник, секвенирование, ПЦР, метагеномика, микробиом.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Advantages and disadvantages of various methods for diagnosing intestinal microbiota disorders*

M. Ogay¹, Yu.A. Fominykh^{1,2}, K.N. Nadzhafova¹

¹ Almazov National Medical Research Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, (2, str. Akkuratova, St. Petersburg, 197341, Russia)

² St. Petersburg State Pediatric Medical University, (2, Litovskaysa, St. Petersburg, 194100, Russia)

For citation: Ogay M., Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N. Advantages and disadvantages of various methods for diagnosing intestinal microbiota disorders. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(2): 179–186. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-234-2-179-186

✉ **Corresponding author:**

Kyamalya N.

Nadzhafova

kyamalyok@yandex.ru

Maksim Ogay, clinical resident of the first year of study at the Department of Propaedeutics of Internal Diseases with the Clinic **Yulia A. Fominykh**, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases with the Clinic; Professor of the Department of Faculty Therapy named after Prof. V.A. Waldman; *ORCID: 0000-0002-2436-3813* **Kyamalya N. Nadzhafova**, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases with the clinic; *ORCID: 0000-0002-8419-0272; SPIN: 4547-2436*

* Рисунок 2 к статье – на цветной вклейке в журнал (стр. IV).

Figure 2 to the article is on the colored inset of the Journal (p. IV).

Summary

The article explores modern methods for diagnosing gut microbiota disorders, including cultural, molecular-genetic, and chromatographic approaches. Their advantages, disadvantages, and clinical significance are highlighted. A significant milestone was the adoption of the international consensus standardizing microbiome diagnostic practices. The article emphasizes the need to select diagnostic methods based on research goals and clinical conditions, considering accuracy, availability, and cost.

Keywords: microbiota, diagnostics, gut, sequencing, PCR, metagenomics, microbiome

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

Введение

Одним из ключевых научных прорывов XXI века стало изучение микробиома – совокупности микроорганизмов, взаимодействующих с организмом человека. Этот сложный микробный ансамбль формировался на протяжении тысячелетий эволюции, создавая устойчивые симбиотические связи с макроорганизмом [1]. Считается, что становление этих взаимоотношений во многом обусловлено метаболическими процессами, которые позволяют организму извлекать дополнительную энергию из потребляемых питательных веществ благодаря их расщеплению кишечной микрофлорой и последующим усвоением хозяином.

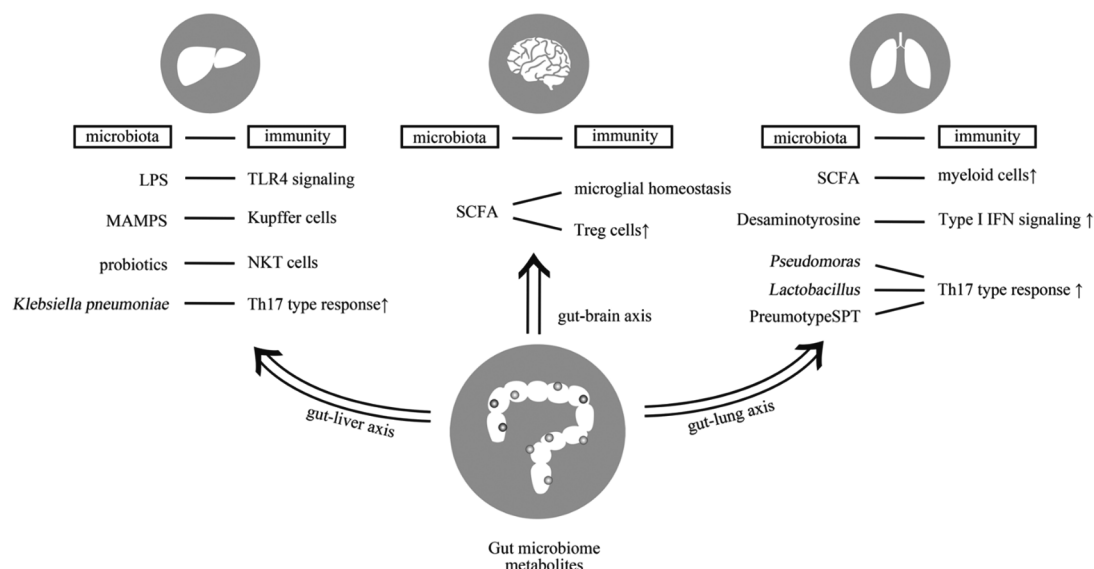
Современное понимание нормальной микробиоты сводится к представлению о ней как о совокупности многочисленных микробных сообществ, каждое из которых имеет характерный видовой состав и заселяет определённые биотопы организма. Основными биотопами считаются кожа, слизистые оболочки верхних дыхательных путей, желудочно-кишечный тракт и наружные отделы мочеполовой системы.

Наиболее густой зоной обитания микробиоты является желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), где общее количество микробных клеток составляет 10^{14} – 10^{15} и превышает число клеток человеческого организма в десять раз [2]. Состав и численность бактерий, обитающих в желудочно-кишечном

тракте, зависят от таких факторов, как возраст, пол [3], влияние окружающей среды, включая особенности питания, применение антибиотиков, психоэмоциональные и физические стрессы, а также уровень радиационного воздействия [4]. Кишечный микробиом тесно взаимодействует с различными органами и системами, участвуя в формировании множества регуляторных контуров или осей (рис. 1) [5], которые влияют на функционирование организма, адаптивные реакции, поведение и эмоциональное состояние. Продукты бактериальной ферментации углеводов, включая короткоцепочечные жирные кислоты, являются основным источником энергии для эпителиальных клеток кишечника. Микроорганизмы снижают образование токсичных метаболитов белкового обмена (фенола и индола и др.), обладающих канцерогенными свойствами, участвуют в синтезе витаминов и способствуют уменьшению уровня холестерина в крови (рис. 2) [6]. Нормальная кишечная микробиота предотвращает размножение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов за счёт колонизационной резистентности, а также играет ключевую роль в поддержании как врождённого, так и адаптивного иммунитета человека [5].

В последние годы в научной литературе представлено множество исследований, демонстрирующих

Рисунок 1. Влияние микробиома на иммунитет органов внекишечной локализации.
Figure 1. Microbiome-immunity interaction in extra-intestinal organs.



связь между изменениями качественного и количественного состава микробиома и развитием различных заболеваний. В частности, отмечается его влияние на патологические состояния сердечно-сосудистой системы, метаболические нарушения (ожирение, сахарный диабет 2-го типа), аллергические реакции (атопический дерматит, бронхиальная астма) и аутоиммунные заболевания (сахарный диабет 1-го типа, целиакия, воспалительные болезни кишечника) [2, 6, 7].

Наряду с этим изучаются и терапевтические подходы в лечении определённых заболеваний, связанных с нарушением микробиоты. Так, рифаксимин может применяться в лечении печёночной энцефалопатии [8, 9] и синдрома раздражённого кишечника с диареей [10, 11]. Международные и отечественные клинические рекомендации предлагают пробиотики для лечения антибиотикоассоциированной диареи [12, 13], в качестве усиливающей терапии эрадикации *H. Pylori*-инфекции

[14], а также для вспомогательной терапии язвенного колита [15] и других заболеваний.

Параллельно растёт интерес научного сообщества непосредственно и в отношении методов диагностики нарушений кишечной микробиоты. Так, в 2024 году под эгидой мультидисциплинарной бригады и ведущих специалистов своей области был принят первый международный консенсус для стандартизации практики диагностики микробиома с целью клинического внедрения, включая разработку рекомендаций по общим принципам и минимальным требованиям к их проведению, показаниям, протоколам предварительного тестирования, методам анализа, отчетности о результатах и потенциальной клинической ценности [16].

В данной работе будут обсуждены актуальные методы диагностики нарушений кишечной микробиоты, их преимущества и недостатки, их клиническая значимость.

Методы исследования микробиоты тонкой кишки

Синдром избыточного бактериального роста (СИБР) – патологическое состояние первичного или вторичного генеза, характеризующееся повышенным количеством ($>10^5$ КОЕ/мл или, в ряде случаев до 10^{11} КОЕ/мл), и/или нарушением состава микробиоты в тонкой кишке в сторону грамотрицательных и анаэробных штаммов, проявляющееся нарушением функций кишечной микробиоты, пищеварения и развитием мальабсорбции [17].

Для диагностики СИБР, то бишь нарушений микробиоты тонкого кишечника, могут применяться прямые (посев тонкокишечного аспирата) и косвенные (дыхательные тесты).

Посев тонкокишечного аспирата. Эталонным исследованием в мировой практике, направленным на диагностику СИБР, является посев аспирата тонкокишечного содержимого. Забор дуоденального и еюнального содержимого осуществляется с помощью специального зонда либо энтероскопа. К наиболее часто выявляемым при культуральном исследовании аспирата микроорганизмам относятся стрептококки, эшерихии, лактобациллы, нейссерии, лактобациллы, бактероиды [18]. Диагностически значимым считается содержание микроорганизмов в аспирате тонкой кишки $>10^6$ КОЕ/мл.

Одним из неоспоримых преимуществ данного метода является возможность получения аспирата непосредственно из тонкой кишки, что обеспечивает топическую оценку микробиоты. Тем не менее, метод сопровождается значительными техническими и функциональными сложностями. В частности, забор материала требует строгого соблюдения асептических стандартов во избежание контаминации образцов, а также оперативной доставки аспирата в лабораторию с особыми условиями для анаэробного культивирования, что затруднительно для большинства клиник. Помимо этого, процедура является инвазивной, продолжительной и дорогостоящей [18]. Дополнительные трудности возникают при идентификации

некультивируемых бактерий и невозможности оценки пристеночной микрофлоры. Традиционная энтероскопия не позволяет диагностировать «дистальный» СИБР, локализованный преимущественно в подвздошной кишке. Наконец, неравномерная бактериальная обсеменённость и избыточный рост бактерий в труднодоступных для аспирации зонах, например, при аномалиях развития тонкой кишки, вызывающих псевдообструкцию и застой содержимого, также могут снижать информативность исследования [19].

Дыхательные тесты. Благодаря своей безопасности, неинвазивности, относительной простоте выполнения и доступной стоимости, дыхательные тесты в настоящее время являются основным методом диагностики СИБР.

Все дыхательные тесты основаны на определении метаболитических продуктов жизнедеятельности кишечной микрофлоры, присутствующих в выдыхаемом воздухе. В качестве диагностических субстратов наиболее широко применяются глюкоза и лактулоза [20]. В результате микробного брожения пищевых волокон, сложных сахаров и гликопротеинов кишечной слизи образуются летучие соединения – водород, метан, углекислый газ – а также короткоцепочечные жирные кислоты и вода. Водородные дыхательные тесты позволяют фиксировать концентрацию водорода в выдыхаемом воздухе, демонстрируя прямую корреляцию между его синтезом в кишечнике и выделением при дыхании [21]. Время, за которое уровень водорода в выдохе повышается во время теста, указывает на отдел кишечника, где протекают процессы ферментации. Преждевременное появление метаболитов в выдыхаемом воздухе, ещё до достижения химусом толстого кишечника, свидетельствует о патологическом разрастании микрофлоры в тонкой кишке [19].

Одним из неоспоримых достоинств дыхательных тестов является их относительная экономическая и повсеместная доступность. Однако

методологические протоколы этих диагностических процедур существенно различаются по таким параметрам, как тип и концентрация применяемого субстрата, общая продолжительность исследования, временные интервалы между забором проб выдыхаемого воздуха и установленный порог детекции водорода. При анализе полученных данных необходимо учитывать, что нарушения гастроинтестинальной моторики, включая замедленную

перистальтику желудка и кишечника, могут приводить к ложноотрицательным результатам. В то же время чрезмерное употребление углеводов пищи накануне исследования способно повысить базальный уровень водорода в выдыхаемом воздухе, что увеличивает риск получения ложноположительных результатов [19]. Чувствительность дыхательного теста с лактулозой составляет 52%, специфичность 86%, с глюкозой 62,5% и 82% соответственно [22].

Методы исследования микробиоты толстой кишки

Культуральный метод. Данный метод основан на применении различных питательных сред для выращивания микробных культур. При помощи данного метода преимущественно определяются просветная микрофлора и бактерии, являющиеся облигатными аэробами или факультативными анаэробами [19].

Метод активно применяется в клинической практике благодаря относительно низкой стоимости и способности предоставить информацию об основных патогенных штаммах микроорганизмов

с последующим определением их антибиотико-чувствительности. К недостаткам можно отнести невозможность определения пристеночной микрофлоры, длительные временные затраты (до 10 дней) для получения результатов, применение дорогостоящих питательных сред, зависимость результатов исследования от техники взятия и хранения образцов, сроков транспортировки. Также данный метод не позволяет идентифицировать простейшие, грибы и вирусы.

Молекулярно-генетические методы

Молекулярно-генетические методы позволяют идентифицировать микроорганизмы посредством определения уникальной последовательности оснований ДНК или РНК.

Традиционно к данным методам относятся:

1. Полимеразная цепная реакция (ПЦР), ПЦР в реальном времени;
2. Методы секвенирования нового поколения (от англ. «new generation sequencing», или NGS):
 - 2.1. Ампликонное секвенирование:
 - 2.1.1. Таргетное 16S рРНК секвенирование;
 - 2.1.2. 18S рРНК секвенирование;
 - 2.1.3. Секвенирование внутреннего транскрибируемого спейсера (от англ. «internal transcribed spacer», или ITS);
 - 2.2. Полногеномное секвенирование:
 - 2.2.1. Shotgun-секвенирование (секвенирование методом дробовика, от англ. «shotgun sequencing», оно же метагеномное секвенирование);
 - 2.2.2. Метатранскриптомное секвенирование.

Полимеразная цепная реакция. В основе метода лежит процесс выделения ДНК из клинического образца, амплификация специфических фрагментов ДНК, детекция продуктов амплификации с определением количества продукта ПЦР в конечной точке амплификации. Особенным отличием ПЦР в реальном времени является возможность совмещения детекции фрагментов искомой макромолекулы ДНК или РНК и количественного их определения в режиме реального времени [2]. К более совершенному варианту относится мультиплексная ПЦР, позволяющая определить сразу несколько последовательностей нуклеотидов.

Методы характеризуются простотой выполнения, возможностью полной автоматизации, оперативным получением результатов и минимальным объемом необходимого материала, позволяя

выявить микроорганизм даже при наличии единственной бактериальной клетки в образце. Однако данная методика обладает высокой информативностью лишь в отношении ограниченного числа условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, а также вирусов. Кроме того, при проведении ПЦР существует риск контаминации реакционной смеси ДНК-молекулами из внешней среды на любом этапе анализа, что может привести к возникновению ложноположительных или ложноотрицательных результатов [19].

Ампликонное секвенирование. 16S рРНК секвенирование. Впервые в 1960 году был выделен молекулярный маркер, позволяющий идентифицировать конкретный таксон микроорганизма и его филогенетическую классификацию. Этим маркером является 16S рРНК, ген, содержащий ~1500 пар оснований, кодирующий каталитическую РНК, которая является частью 30S субъединицы рибосомы [23]. Последовательность гена 16S рРНК была определена для большого числа штаммов. GenBank, крупнейший банк данных нуклеотидных последовательностей, содержит более 20 миллионов последовательностей, из которых более 90 000 относятся к гену 16S рРНК. Это означает, что существует множество ранее изученных последовательностей, с которыми можно сравнить последовательность неизвестного штамма [38]. Однако, в большинстве случаев, 16S рРНК секвенирование не позволяет классифицировать микробиоты ниже уровня рода и дает лишь приблизительные профили микробных генов и функций [24].

Описанная технология сильно схожа с теми, что будут описаны ниже, поэтому их применение и сравнительная характеристика будут описаны далее.

18S рРНК секвенирование и секвенирование внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS). Когда дело доходит до молекулярной идентификации грибов, наиболее широко используемыми

Таблица 1. Сравнительная характеристика 16S рРНК секвенирования и метагеномного секвенирования.
Table 1. Comparative characteristics of 16S rRNA sequencing and metagenomic sequencing.

| Характеристика | 16S рРНК секвенирование | Метагеномное секвенирование методом дробовика |
|--|---|--|
| Подготовка образца | Сравнительно одинаковая сложность выполнения | |
| Возможность контаминации материалом немикробного происхождения | Отсутствует. Секвенируется только бактериальная рРНК | Возможно секвенирование ДНК хозяина (тканей кожи, слизистой) |
| Возможность оценки функционального профиля микробного генома | Отсутствует (однако, возможно «предположение» функциональности генов) | Есть (но данный метод только предоставляет информацию о наличии функциональном потенциале) |
| Таксономическое покрытие | Бактерии и археи | Все таксоны, включая вирусы |
| Таксономическая представленность | На уровне рода | На уровне рода, вида и штамма |

методами являются ампликонное секвенирование на основе 18S рРНК (является основным компонентом клеток грибов) и ITS (представляет собой последовательность ядерной рибосомной ДНК грибов), где в обоих случаях применяется ПЦР для амплификации ДНК с помощью специфических праймеров. После анализа последовательностей и их сравнения с известной базой данных можно определить видовую принадлежность этих микроорганизмов [29].

Shotgun-секвенирование. Методика заключается в случайной фрагментации ДНК, напоминающую разброс дроби при выстреле, что и подарило методу такое название. Далее эти фрагменты секвенируются и «склеиваются» воедино с помощью методов биоинформатики для идентификации генов. В отличие от ранее описанных методик, shotgun-секвенирование позволяет прочитать целый фрагмент ДНК, в отличие от только лишь отдельно взятой 16S/18S рРНК. Однако детальность shotgun-секвенирования зависит от выбора технологии «глубины» оценки генома. Так, shotgun-секвенирование делится на глубокое (deep shotgun metagenomic sequencing, DS) и поверхностное (shallow shotgun metagenomics sequencing, SS) [25]. Определяемая «глубина» при DS составляет более 10 миллионов считываний на образец, что обеспечивает детальную характеристику таксономического состава на уровне видов и штаммов, а также непосредственно наблюдаемого профиля генов [26]. В связи с «углубленной» оценкой генов, DS значительно дороже SS, что не позволяет использовать его в крупных исследованиях. Поверхностное секвенирование, в свою очередь, представляет собой альтернативу между 16S рРНК и DS секвенированием, выступая более дешёвой альтернативой. При SS определяемая «глубина» составляет от 2 до 5 миллионов считываний на образец, что всё ещё демонстрирует высокое соответствие (97%) с DS как по таксономическому, так и по функциональному содержанию генов при затратах, сопоставимых с 16S рРНК секвенированием [27, 28].

Сравнение 16S рРНК секвенирования и метагеномного секвенирования методом дробовика представлено в *табл. 1* [16].

Таким образом, любой из видов секвенирования методом дробовика позволяет идентифицировать весь спектр микроорганизмов, включая бактерии, вирусы, грибы и простейших. Также

рассматриваемый способ оценивает весь профиль микробных генов в исследуемом образце, что называется метагеномом. Метагеном, в свою очередь, даёт возможность исследовать функциональный потенциал микробиома, в том числе его резистом (то есть гены устойчивости к антибиотикам) и гены, кодирующие различные белки и ферменты, участвующие в биосинтезе и катаболизме различных соединений.

Ещё более информативным методом является **метатранскриптомное секвенирование**. Хотя метагеномика предоставляет доступ к микробным генам и их составу, она играет ограниченную роль в выявлении экспрессии генов в микробном сообществе. Метагеномное секвенирование методом дробовика проводится на геномной ДНК, выделенной из биологических образцов; однако трудно определить, происходит ли эта ДНК из жизнеспособных или мертвых клеток, а также экспрессируются ли данные гены в определенных условиях. Вместо этого метатранскриптомное секвенирование позволяет удалить из образцов клетки хозяина, определить, является ли микрорганом активным членом микробиома или нет, и идентифицировать активно экспрессируемые им гены в микробном сообществе, чтобы получить более глубокое представление об активности интересующего гена. Метатранскриптомика дополняет метагеномику секвенирования методом дробовика, определяя, какие гены активно транскрибируются из потенциального репертуара выделенных генов, выявленного с помощью shotgun-секвенирования [29]. Так, анализ метатранскриптомного секвенирования был использован для изучения микробной РНК-опосредованной регуляции (то есть генов только живых микроорганизмов) и экспрессии биологических маркеров при различных заболеваниях, таких как воспалительные заболевания кишечника [30] и ревматоидный артрит [31]. Однако ввиду ещё большей стоимости и недоступности с технологической точки зрения, данный метод пока не приобрёл популярности в России. Несмотря на это, молекулярно-генетические методы остаются перспективным инструментом для изучения структуры микробных сообществ и их функциональных особенностей в норме и при патологии. Важнейшую роль играет грамотный выбор метода исследования в соответствии с поставленными целями и задачами.

Исследование метаболома

Метаболом, являясь набором конечных продуктов биохимических реакций в бактериальной клетке, изучается с помощью хроматографических методов [19]. Хроматография, как метод разделения смесей, использует принцип дифференцированного распределения компонентов между двумя фазами: той, которая движется, и той, которая остается неподвижной. Хроматографические методы классифицируются по агрегатному состоянию подвижной фазы, что приводит к разделению на два основных типа: жидкостные, где подвижной фазой служит жидкость, и газовые, где подвижной фазой выступает газ. С точки зрения изучения метаболома наиболее актуальны будут газо-жидкостная хроматография и газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием [32].

Газо-жидкостная хроматография дает возможность динамически отслеживать метаболизм анаэробных микроорганизмов, изучая состав и количество выделяемых ими летучих жирных кислот, таких как уксусная, пропионовая, изомасляная, масляная, изовалериановая, валериановая, изокапроновая и капроновая, а также органических соединений, например, фенола и индола. Данный аналитический метод позволяет сделать выводы о функциональном состоянии этой группы микроорганизмов. Однако, стоит отметить, что данный метод ограничен тем, что может определять только летучие соединения.

Для определения видового разнообразия микроорганизмов по нелетучим соединениям применима газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией. Метод базируется на выявлении

микроорганизмов по специфическим для них нелетучим жирным кислотам (молочная, щавелево-уксусная, щавелевая, янтарная, пировиноградная и др.), альдегидам и стеринам, входящим в состав их клеточной стенки, на основании разделения данных веществ на хроматографе и анализа их состава в динамическом режиме на масс-спектрометре. Одновременно с этим можно оценить вирулентность (наличие адгезинов, ферментов, токсинов и др.) некоторых микроорганизмов [33, 34]. Также газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией позволяет определить и антибиотикорезистентность микроорганизмов, используя определённые дополнительные модули для анализа исследуемого микробиома. Однако, основной недостаток этого способа связан с отсутствием стандартизованных критериев оценки резистентности, аналогичных таковым Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам и Института клинических и лабораторных стандартов США [35].

В целом, к недостаткам хроматографических методов можно отнести необходимость выполнения многократных исследований для анализа широкого диапазона микроорганизмов, особенности компьютерной обработки, недостоверную идентификацию возбудителя в биологическом образце, содержащем несколько микроорганизмов, сложность определения представителей отдельных таксономических групп, которые получили название «трудно идентифицируемые таксоны», затруднённую идентификацию близкородственных групп микроорганизмов и высокую стоимость исследования [19, 35].

Заключение

В данной работе были рассмотрены основные методы диагностики нарушений микробиоты кишечника, включая культуральные, молекулярно-генетические и хроматографические методы. Каждый из представленных подходов обладает как преимуществами, так и недостатками, что требует индивидуального подхода к выбору метода в зависимости от целей исследования и клинических задач.

Важным шагом в развитии диагностики нарушений микробиоты стало принятие международного консенсуса, который стандартизировал практики и требования к проведению исследований. Согласно постановлению рабочей группы, было принято решение, что подходящими методами для анализа кишечного микробиома являются ампликонное и полногеномное секвенирование.

Традиционное бактериологическое исследование и полимеразная цепная реакция всё ещё остаются чрезвычайно полезными в ряде клинических случаев, главным образом, для идентификации специфических патогенных микроорганизмов, однако они не подходят для оценки состава микробных сообществ и, следовательно, не могут

рассматриваться в качестве альтернативы для профилирования микробиома.

Другие методы секвенирования (например, одномолекулярное секвенирование, полное секвенирование гена 16S рРНК или секвенирование через нанопоры) так же в равной степени могут иметь потенциал в будущем, однако их относительная новизна пока не позволяет реализовывать их в клинической практике в настоящее время.

Непосредственно в Российской Федерации для диагностики нарушений микробиоты чаще всего используются бактериологические методы в виду их дешевизны, относительной простоты исполнения и возможности определения антибиотико-чувствительности; и молекулярно-генетические методы, такие как ПЦР с целью более быстрой и точной (как количественной, так и качественной) диагностики. Масс-спектрометрия и метагеномные исследования используются в меньшей степени по причине высокой стоимости, однако последние представляют собой высокоинформативные методы, которые можно использовать в серьёзных научных исследованиях. Их внедрение в рутинную клиническую и научную практику пока не представляется возможным.

Таким образом, выбор метода диагностики должен основываться на балансе между точностью, доступностью и финансовыми возможностями, а также учитывать специфические задачи и особенности конкретного клинического случая.

Продолжающееся развитие технологий и стандартизация методик открывают новые горизонты для исследований и клинической практики в области диагностики и лечения заболеваний, связанных с нарушением микробиоты кишечника.

Литература | References

- Ivanov D.O., Uspensky Yu.P., Gurova M.M., Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N. Microbiota, human intelligence and metabolic syndrome: pathogenetic parallels. *University Therapeutic Journal*. 2020; 2(1): 6–16. (in Russ.)
Иванов Д.О., Успенский Ю.П., Гурова М.М., Фоминых Ю.А., Наджафова К.Н. Микробиота, интеллект человека и метаболический синдром: патогенетические параллели. *University Therapeutic Journal*. 2020; 2(1): 6–16.
- Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N. Practical recommendations for therapists on the diagnosis and treatment of microbiota disorders in diseases of the digestive system. *University Therapeutic Journal*. 2021;3(4):155–165. (in Russ.)
Фоминых Ю.А., Наджафова К.Н. Практические рекомендации для терапевтов по диагностике и лечению нарушений микробиоты при заболеваниях пищеварительной системы. *University Therapeutic Journal*. 2021;3(4):155–165.
- Fominykh Yu.A., Uspensky Yu.P., Nadzhafova K.N. Interrelations between lipid metabolism and intestinal microbiota. *University Therapeutic Journal*. 2023;5(S):169. (in Russ.)
Фоминых Ю.А., Успенский Ю.П., Наджафова К.Н. Взаимосвязи между липидным обменом и микробиотой кишечника. *University Therapeutic Journal*. 2023;5(S):169.
- Uspensky Yu.P., Fominykh Yu.A., Nadzhafova K.N. Cigarette smoke and human intestinal microbiota. *University Therapeutic Journal*. 2023;5(S): 168. (in Russ.)
Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., Наджафова К.Н. Сигаретный дым и кишечная микробиота человека. *University Therapeutic Journal*. 2023;5(S): 168.
- Zheng D., Liwinski T., Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res*. 2020;30:492–506. doi: 10.1038/s41422-020-0332-7.
- Yersin S., Vonaesch P. Small intestinal microbiota: from taxonomic composition to metabolism. *Trends Microbiol*. 2024;32(10):970–983. doi: 10.1016/j.tim.2024.02.013.
- Proal A.D., Albert P.J., Marshall T. Autoimmune disease in the era of the metagenome. *Autoimmun Rev*. 2009 Jul;8(8):677–81. doi: 10.1016/j.autrev.2009.02.016.
- Bajaj J.S., Heuman D.M., Wade J.B., Gibson D.P. et al. Rifaximin improves driving simulator performance in a randomized trial of patients with minimal hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*. 2011 Feb;140(2):478–487. e1. doi: 10.1053/j.gastro.2010.08.061.
- Ivashkin V.T., Maevskaya M.V., Zharkova M.S. et al. Clinical guidelines of the Russian Society for the Study of the Liver and the Russian Gastroenterological Association for the diagnosis and treatment of liver fibrosis and cirrhosis and their complications. *Ross J Gastroenterol Hepatol Coloproctol*. 2021;31(6):56–102. doi: 10.22416/1382-4376-2021-31-6-56-102.
- Lacy B.E., Pimentel M., Brenner D.M. et al. ACG Clinical Guideline: Management of Irritable Bowel Syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2021;116(1):17–44. doi: 10.14309/ajg.000000000001036.
- Fominykh Yu.A., Bashkina O.A., Nadzhafova K.N., Iskalieva A.R., Imanverdieva N.A.K. Clinical observation of microscopic colitis. *University Therapeutic Journal*. 2022;4(S):109. (in Russ.)
Фоминых Ю.А., Башкина О.А., Наджафова К.Н., Искалиева А.Р., Иманвердиева Н.А.К. Клиническое наблюдение микроскопического колита. *University Therapeutic Journal*. 2022;4(S):109.
- Guarner F., Sanders M.E., Szajewska H. et al. J. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Probiotics and Prebiotics. *J Clin Gastroenterol*. 2024; 1;58(6):533–553. doi: 10.1097/MCG.0000000000002002.
- Ivashkin V.T., Gorelov A.V., Abdulganieva D.I. et al. Methodological Guidelines of the Scientific Community for Human Microbiome Research (CHMR) and the Russian Gastroenterology Association (RGA) on the Use of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, Metabiotics and Functional Foods Enriched with Them for the Treatment and Prevention of Gastrointestinal Diseases in Adults and Children. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2024;34(4):113–136. doi: 10.22416/1382-4376-2024-117-312.
Ивашкин В.Т., Горелов А.В., Абдулганиева Д.И., и соавт. Методические рекомендации Научного сообщества по содействию клиническому изучению микробиома человека и Российской гастроэнтерологической ассоциации. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2024;34(4):113–136. doi: 10.22416/1382-4376-2024-117-312.
- Malferteiner P., Megraud F., Rokkas T. et al. European Helicobacter and Microbiota Study group. Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. *Gut*. 2022; 8: gutjnl-2022-327745. doi: 10.1136/gutjnl-2022-327745.
- Harbord M., Eliakim R., Bettenworth D. et al. European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO]. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management. *J Crohns Colitis*. 2017 Jul 1;11(7):769–784. Erratum in: *J Crohns Colitis*. 2017; 4;11(12):1512. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjx009.
- Porcari S., Mullish B.H., Asnicar F. et al. International consensus statement on microbiome testing in clinical practice. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2025;10(2):154–167. doi: 10.1016/S2468-1253(24)00311-X.
- Ivashkin V.T., Maev I.V., Abdulganieva D.I. et al. Practical recommendations on the diagnosis and treatment of small intestinal bacterial overgrowth in adults. *Ross J Gastroenterol Hepatol Coloproctol*. 2022;32(3):68–85. doi: 10.22416/1382-4376-2022-32-3-68-85.
Ивашкин В.Т., Маев И.В., Абдулганиева Д.И., и соавт. Практические рекомендации Научного сообщества по содействию клиническому изучению микробиома человека и Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению синдрома избыточного бактериального роста у взрослых. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2022;32(3):68–85. doi: 10.22416/1382-4376-2022-32-3-68-85.

18. Rao S.S.C., Bhagatwala J. Small intestinal bacterial overgrowth: clinical features and therapeutic management. *Clin Transl Gastroenterol.* 2019;10(10). doi: 10.14309/ctg.0000000000000078.
19. Poluektova Ye.A., Lyashenko O.S., Shifrin O.S., Sheptulin A.A., Ivashkin V.T. Modern methods of studying of human gastro-intestinal microflora. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2014;24(2):85–91. (In Russ.)
Полужктова Е.А., Ляшенко О.С., Шифрин О.С., Шептулин А.А., Ивашкин В.Т. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2014;24(2):85–91.
20. Riordan S.M., McIver C.J., Walker B.M. et al. The lactulose breath hydrogen test and small intestinal bacterial overgrowth. *Am J Gastroenterol.* 1996;91:1795–1803.
21. Levitt M.D. Production and excretion of hydrogen gas in man. *N Engl J Med.* 1969;281:122–127. doi: 10.1056/NEJM196907172810303.
22. Pimentel M. Breath Testing for Small Intestinal Bacterial Overgrowth: Should We Bother? *Am J Gastroenterol.* 2016;111(3):307–8. doi: 10.1038/ajg.2016.30.
23. Srinivasan R., Karaoz U., Volegova M. et al. Use of 16S rRNA gene for identification of a broad range of clinically relevant bacterial pathogens. *PLoS One.* 2015;10(2):e0117617. doi: 10.1371/journal.pone.0117617.
24. Langille M.G., Zaneveld J., Caporaso J.G. et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol.* 2013;31(9):814–821. doi: 10.1038/nbt.2676.
25. La Reau A.J., Strom N.B., Filvaroff E. et al. Shallow shotgun sequencing reduces technical variation in microbiome analysis. *Sci Rep.* 2023;13:7668. doi: 10.1038/s41598-023-33489-1.
26. Vangay P., Johnson A.J., Ward T.L. et al. US immigration westernizes the human gut microbiome. *Cell.* 2018;175:962–972.e10. doi: 10.1016/j.cell.2018.10.029.
27. Hillmann B., Al-Ghalith G.A., Shields-Cutler R.R. et al. Evaluating the information content of shallow shotgun metagenomics. *mSystems.* 2018;3(6):1–12. doi: 10.1128/mSystems.00069–18.
28. Durazzi F., Sala C., Castellani G. et al. Comparison between 16S rRNA and shotgun sequencing data for the taxonomic characterization of the gut microbiota. *Sci Rep.* 2021;11:3030. doi: 10.1038/s41598-021-82726-y.
29. Gao B., Chi L., Zhu Y. et al. An introduction to next generation sequencing bioinformatic analysis in gut microbiome studies. *Biomolecules.* 2021;11(4):530. doi: 10.3390/biom11040530.
30. Schirmer M., Franzosa E.A., Lloyd-Price J. et al. Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nat Microbiol.* 2018;3:337–346. doi: 10.1038/s41564-017-0089-z.
31. Bornigen D., Morgan X.C., Franzosa E.A. et al. Functional profiling of the gut microbiome in disease-associated inflammation. *Genome Med.* 2013;5:1–13. doi: 10.1186/gm469.
32. Shapalova E.N., Pirogov A.V. Chromatographic methods of analysis: Methodical manual for a special course. Moscow, 2007.
Шапалова Е.Н., Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа: Метод. пособие для специального курса. Moscow, 2007.
33. Scott N.E., Marzook N.B., Deutscher A. et al. Mass spectrometric characterization of the *Campylobacter jejuni* adherence factor CadF reveals post-translational processing that removes immunogenicity while retaining fibronectin binding. *Proteomics.* 2010;10(2):277–288. doi: 10.1002/pmic.200900440.
34. Valour F., Rasigade J.P., Trouillet-Assant S. et al. Delta-toxin production deficiency in *Staphylococcus aureus*: a diagnostic marker of bone and joint infection chronicity linked with osteoblast invasion and biofilm formation. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(6):568.e1–568.e11. doi: 10.1016/j.cmi.2015.01.026.
35. Bocharova Yu.A., Chebotar I.V., Mayanskii N.A. The possibilities, problems and perspectives of mass-spectrometry in medical microbiology: publications review. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (4): 249–256. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256.
Бочарова Ю.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Возможности, проблемы и перспективы массспектрометрических технологий в медицинской микробиологии (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61 (4): 249–256. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256.

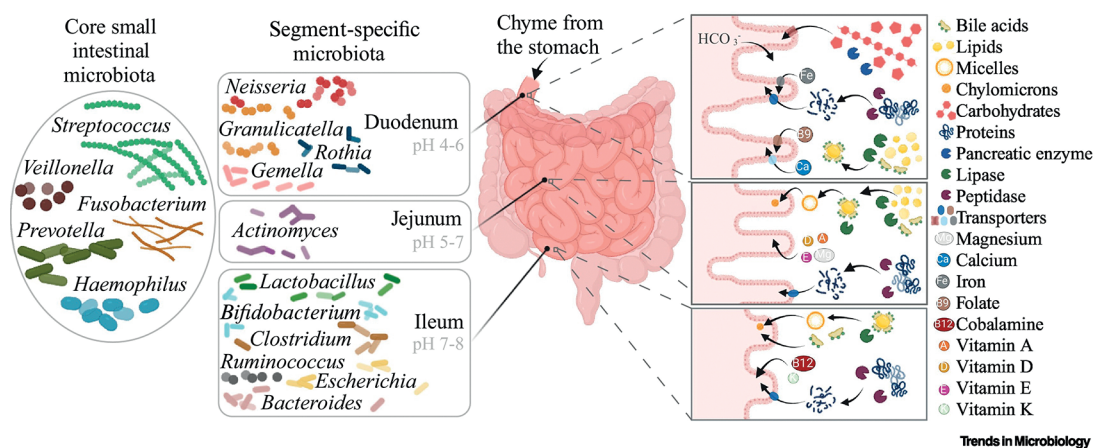
К статье

Преимущества и недостатки различных методов диагностики нарушений микробиоты кишечника (стр. 179–186)

To article

Advantages and disadvantages of various methods for diagnosing intestinal microbiota disorders (p. 179–186)

Рисунок 2.
Микробиота тонкого кишечника и области всасывания питательных веществ.
Figure 2.
The small intestinal microbiota and the sites of absorption of nutrients



Trends In Microbiology