

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 579.61

1.5.11. Микробиология (медицинские науки)

<https://doi.org/10.17021/1992-6499-2024-4-46-59>

**ХАРАКТЕР МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ
У МОЛОДЫХ ЛИЦ г. АРХАНГЕЛЬСКА**

**Наталья Николаевна Кукалевская, Татьяна Александровна Бажукова,
Наталья Валерьевна Давидович, Михаил Алексеевич Сабанаев,
Валерия Александровна Хомеча**
Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия

Аннотация. Изучение биоразнообразия микробиоты толстой кишки у жителей Арктических регионов представляет сегодня особый интерес. Сочетание культуральных и молекулярно-генетических методик позволяет полноценно оценить спектр микробиоты. Цель исследования – оценить характер микробиоты толстой кишки у молодых здоровых жителей г. Архангельска. Исследованы фекалии здоровых жителей г. Архангельска ($n = 43$). Анализ характера микробиоты проводили культуральным методом и полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с определением 33 показателей. По данным ПЦР у 100 % обследуемых отмечали дефицит лактобактерий, *Roseburia inulinivorans* – 20,9 %, *Blautia spp.* – 72,1 %, *Agathobacter rectalis* – 37,2 %, *E. coli* – 60,46 %, а также избыток *Fusobacterium nucleatum* – в 16,28 % случаев, *Streptococcus spp.* – 13,95 %, *Acinetobacter spp.* – 6,97 %, условно-патогенных представителей порядка *Enterobacteriales* – в 32,58 %. По результатам культурального метода исследования регистрировали дефицит лактобактерий в 97,67 % случаев, энтерококков – 51,16 %, бактериоидов – 27,91 %, типичной (лактоза+) *E. coli* – 72,09 %, бифидобактерий – 13,95 %, а также выявление избытка *Klebsiella spp.* – в 32,58 %, *Staphylococcus aureus* – 4,65 %. Среднее количество лактобактерии, зарегистрированных культуральным методом составило 4,81 lg КОЕ/г, энтерококков – 5,0 lg КОЕ/г, *S. aureus* – 5,12 lg КОЕ/г, *K. Pneumonia* – 4,75 lg КОЕ/г, *K. oxytoca* – 5,62 lg КОЕ/г, *E. coli* – 6,52 lg КОЕ/г, *Bifidobacterium spp.* – 9,0 lg КОЕ/г, *Bacteroides spp.* – 9,0 lg КОЕ/г. Статистически значимые различия в определении микроорганизмов были обнаружены в отношении *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* ($p < 0,001$). Таким образом, культуральным и молекулярно-генетическими методами исследования нами выявлен дисбаланс микробиоты толстой кишки у здоровых жителей г. Архангельска.

Ключевые слова: культуральный метод, полимеразная цепная реакция, микробиота толстой кишки, северный регион

Для цитирования: Кукалевская Н. Н., Бажукова Т. А., Давидович Н. В., Сабанаев М. А., Хомеча В. А. Характер микробиоты толстой кишки у молодых лиц г. Архангельска // Астраханский медицинский журнал. 2024. Т. 19, № 4. С. 46–59. <https://doi.org/10.17021/1992-6499-2024-4-46-59>.

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Original article

CHARACTERISTIC OF GUT MICROBIOTA IN YOUNG PEOPLE IN ARKHANGELSK

**Natal'ya N. Kukalevskaya, Tatyana A. Bazhukova, Nataliya V. Davidovich,
Mikhail A. Sabanaev, Valeriya A. Khomecha**
Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Abstract. The study of the biodiversity of the colon microbiota in residents of the Arctic regions is currently of particular interest. The combination of cultural and molecular genetic methods allows for a comprehensive assessment of the microbiota spectrum. Purpose of the study – to assess the colon microbiota in young, healthy residents of Arkhangelsk. The material for the study was feces from healthy residents ($n = 43$). Analysis of the nature of the microbiota was carried out using cultural methods and PCR with the determination of 33 indicators. Research results. According to PCR data, 100 % of the subjects had a deficiency of lactobacilli; *Roseburia inulinivorans* was present in 20.9 %, *Blautia spp.* in

72.1 %, *Agathobacter rectalis* in 37.2 %, *E. coli* in 60.46 %, and there was an excess of *Fusobacterium nucleatum* in 16.28% of cases, *Streptococcus spp.* in 13.95 %, *Acinetobacter spp.* in 6.97 %, and opportunistic representatives of the order Enterobacteriales in 32.58 %. According to the results of the cultural research method, a deficiency of lactobacilli was recorded in 97.67 % of cases, enterococci in 51.16 %, Bacteroides in 27.91 %, typical (lactose +) *E. coli* in 72.09 %, bifidobacteria in 13.95 %, as well as detection of an excess of *Klebsiella spp.* in 32.58 % and *Staphylococcus aureus* in 4.65 %. The average amount of lactobacilli by the cultural method was 4.81 lg CFU/g, Enterococci 5.0 lg CFU/g, *S. aureus* 5.12 lg CFU/g, *K. pneumoniae* 4.75 lg CFU/g, *K. oxytoca* 5.62 lg CFU/g, *E. coli* 6.52 lg CFU/g, *Bifidobacterium spp.* 9.0 lg CFU/g, and *Bacteroides spp.* 9.0 lg CFU/g. Statistically significant differences in the identification of microorganisms were found for *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, and *Bacteroides spp.* ($p < 0.001$). An imbalance of the colon microbiota in healthy residents of Arkhangelsk was revealed through cultural and molecular genetic research methods.

Key words: cultural method, molecular genetic method, colon microbiota, northern region

For citation: Kukalevskaya N. N., Bazhukova T. A., Davidovich N. V., Sabanaev M. A., Khomecha V. A. Characteristic of gut microbiota in young people in Arkhangelsk. Astrakhan Medical Journal. 2024; 19 (4): 46–59. <https://doi.org/10.17021/1992-6499-2024-4-46-59> (In Russ.).

Введение. Микроорганизмы заселяют основные биотопы организма человека. Наиболее изучаемым из них является толстая кишка, которая содержит до 10^{14} микробных клеток, предположительно около 2 кг составляет общий вес бактерий в организме человека [1]. Приблизительно тысячу видов бактерий, которые по большей части являются анаэробами, можно обнаружить в кишечнике. Кроме того, таксономический состав микробного сообщества данного биотопа различен у здоровых людей. При этом на протяжении всей жизни человека микробиота здоровых людей остается относительно стабильной. Имеется ряд факторов, способных оказывать воздействие на ее состав, – способ рождения, генетические особенности человека, возраст, регион проживания, прием антимикробных и пробиотических препаратов, стресс и характер питания [2].

Хорошо изучены возрастные особенности микробиоты [3], влияния антимикробных препаратов и состав микробиоты на фоне приема пробиотиков [4]. Имеются данные о том, как может меняться микробиота толстой кишки при различных диетах (западной, веганской, вегетарианской) [5], отдельных продуктов питания [6]. Географические особенности микробиома описаны во многих работах, однако большая их часть сфокусирована на жителях азиатских стран, Европы и США [7]. Мало информации представлено относительно микробиоты толстой кишки у здоровых жителей России, в свою очередь, еще меньше трудов, затрагивающих Арктическую зону.

Арктическая зона Российской Федерации характеризуется суровыми природно-климатическими условиями, повышенной электромагнитной активностью, фотопериодизмом, несбалансированным питанием и особым составом питьевой воды. В Арктике широко распространены стрессорные факторы – токсиканты, экстремальные условия окружающей среды, изменения питания и физической активности. Всё это приводит к изменению состава, функции и метаболической активности микробиоты толстой кишки [8, 9]. С учетом вышесказанного исследование особенностей функционирования организма человека в районах Крайнего Севера является актуальным.

Цель – оценить характер микробиоты толстой кишки у здоровых жителей г. Архангельска с использованием двух методов: бактериологического и молекулярно-генетического (полимеразная цепная реакция, полимеразная цепная реакция (ПЦР)).

Материалы и методы исследования. Материалом для проведения анализа послужили фекалии. Изучение кишечной микробиоты проводили у 43 здоровых лиц (14 мужчин и 29 женщин) в возрасте от 18 до 45 лет (молодой возраст по классификации Всемирной организации здравоохранения). В выборку вошли студенты и сотрудники ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» (г. Архангельск) Минздрава России. Дизайн исследования – поперечное. Работа выполнена в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 и 2004 гг.), при наличии письменного добровольного информированного согласия всех участников исследования и с учетом специально разработанных критериев. Критериями исключения стали: употребление антимикробных или пробиотических препаратов в течение трех месяцев до момента забора биоматериала, отклонение индекса массы тела от нормы, наличие аутоиммунных, аллергических, эндокринных, воспалительных или инфекционных заболеваний, злокачественных новообразований. Работа одобрена этическим комитетом Северного государственного медицинского университета (протокол № 07/09-22 от 28.09.2022).

Согласно отраслевому стандарту [10] и приказу № 298н «Об утверждении Порядка диагностики состояния микробиоты, осуществления мер по сохранению или восстановлению нормальной микробиоты человека» для оценки состава микробиоты были проведены культуральный и молекулярно-генетический методы исследования, позволяющие установить ее качественный и количественный составы. Перед проведением исследования все участники были проинформированы о правилах подготовки к бактериологическому исследованию. Нарушение преаналитического этапа культурального метода исследования являлось критерием исключения участника из исследования. Время доставки материала в лабораторию составляло не более 2 ч.

После получения материала его сразу же сеяли на соответствующие питательные среды для анализа культивируемых микроорганизмов. Анализ биоразнообразия просветной микробиоты толстой кишки проводили в соответствии с отраслевым стандартом и информационным письмом «Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника» [11]. Образец фекалий (0,5 г) разводили 4,5 мл стерильным физиологическим раствором, отбирая 0,5 мл содержимого пробирки стерильной пипеткой для приготовления разведений до 10^{-9} . Посев на соответствующие плотные питательные среды (табл. 1) осуществляли бактериологической петлей диаметром 3 мм (0,03 мл). В другие среды (агар Шадлера, бифидум-среда, железосодержащий сульфитный агар) после расплавления и охлаждения до 40°C добавляли по 1,0 мл соответствующего разведения (табл. 1) с помощью стерильной пипетки. В течение 48–72 ч осуществляли инкубирование посевов в термостате при 37°C , при этом чашки с питательной средой для культивирования лактобактерий были помещены в атмосферу 5 % CO_2 на 48 ч. Результаты культурального исследования микробиоты выражали в lg КОЕ/г.

Идентификацию микроорганизмов осуществляли по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам.

Морфологические особенности изучали после окраски по методу Грама, просматривая мазки с помощью светового микроскопа с объективом $100\times$ (1,25 oil). По характеру роста на питательных средах проводили оценку культуральных свойств микроорганизмов. С помощью бульонной основы с феноловым красным (Conda «Pronadisa», Испания) и дисков для определения ферментации углеводов (Hiimedia, Индия) оценивали биохимическую активность согласно справочнику [12]. Для изучения ферментативной активности представителей *Enterobacteriales* были использованы: агар Клиглера для определения глюкозы и лактозы, сероводорода, Sim среда (Conda «Pronadisa», Испания) – сульфиды, индола и подвижности, цитратный агар Симмонса (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) – анаболизм цитратов. Кроме того, для видового определения энтеробактерий использовали СИБ (набор реагентов № 2 «Микроген», Россия). Идентификацию грибов рода *Candida* осуществляли по способности ферментировать глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, трегалозу.

Таблица 1. Посев разведений фекалий на питательные среды
Table 1. Sowing feces for nutrient media

Питательная среда (производитель)	Микроорганизмы	Разведения				
		10^{-1}	10^{-3}	10^{-5}	10^{-7}	10^{-9}
MRS среда (Conda «Pronadisa», Испания)	Лактобактерии (лактобациллы)	+	+	+		
Агар с фенилаланином (Conda «Pronadisa», Испания)	Протей	+				
Агар Шадлера (Conda «Pronadisa», Испания)	Бактероиды				+	+
Бифидум-среда (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск)	Бифидобактерии				+	+
Железосодержащий сульфитный агар (Hiimedia, Индия)	Клостридии			+	+	
Кровяной агар (5 %) (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск)	Гемолитические микроорганизмы		+	+	+	
Маннит-солевой агар (Conda «Pronadisa», Испания)	Золотистый стафилококк	+	+			
Сабуро декстрозный агар (Conda «Pronadisa», Испания)	Дрожжеподобные грибы	+	+			
Среда Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск)	Энтеробактерии		+	+	+	
Энтерококк-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск)	Энтерококки		+	+	+	

Также было проведено молекулярно-генетическое исследование. Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из фекалий проводили по инструкции с помощью комплекта реагентов («ДНК-сорб-В», AmpliSens, Россия). Длительность хранения очищенных проб ДНК в замороженном виде при минус 20° С не превышала более 1 месяца.

На амплификаторе «ДТлайт-48» (ООО «ДНК-технология», Россия) проводилась ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов «Колонолор-16 премиум» (ООО «АльфаЛаб», Россия). Набор позволяет выявить общую бактериальную массу, соотношение *B. fragilis* / *F. prausnitzii* и 31 представителя микроорганизмов из семи типов: *Acinetobacter spp.*, *Agathobacter rectalis*, *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides spp.*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium spp.*, *Blautia spp.*, *Candida spp.*, *Citrobacter spp.*, *Clostridioides difficile*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli enteropathogenic*, *Escherichia coli*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumonia*, *Lactobacillus spp.*, *Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadmanae*, *Parvimonas micra*, *Prevotella spp.*, *Proteus vulgaris / mirabilis*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* Количественное содержание микроорганизмов выражали в Ig КОЕ/г.

Статистическая обработка полученных результатов была проведена с помощью пакета программ для статистической обработки данных STATA v.14 (College Station, TX: StataCorp LP., USA). Категориальные переменные представлены в виде долей (в %), количественные – с помощью медианы и квартилей (Q1, Q3). С помощью критерия Шапиро – Уилка оценивали нормальность распределения выборки. Для анализа различий между группами был использован критерий Вилкоксона, для оценки корреляции – критерий Спирмена. Силу связи определяли по значению коэффициента корреляции: сильная – от 0,7 до 0,99; средняя – от 0,3 до 0,69, слабая – от 0,01 до 0,29 [13]. Критический уровень статистической значимости составил $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Частота встречаемости изучаемых представителей толстой кишки у 43 обследуемых методом ПЦР представлена в таблице 2. Данные сравнивали с референсными значениями, предложенными производителем набора реагентов («Колонолор-16 премиум», ООО «АльфаЛаб», Россия).

Среди 31 представителя микробиоты, определяемого с использованием набора «Колонолор-16. Премиум», 11 относились к типу *Bacillota* (ранее *Firmicutes*), 10 – *Pseudomonadota* (ранее *Proteobacteria*), 3 – *Bacteroidota* (ранее *Bacteroidetes*), по 1 представителю типов *Fusobacteriota* (ранее *Fusobacteria*), *Verrucomicrobiota* (*Verrucomicrobia*) и *Actinomycetota* (*Actinobacteria*). Тип *Euryarchaeota* представлен двумя видами. *Mycobiota* включала определение типа *Ascomycota* – *Candida spp.*

Некоторые представители были в пределах референсных значений: *Enterococcus spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus spp.*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Akkermansia muciniphila*, *Methanobrevibacter smithii*.

Не было обнаружено патогенных представителей *Escherichia coli enteropathogenic*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, также не выявлены *Clostridium perfringens*, *Proteus vulgaris / mirabilis*, *Parvimonas micra* и грибы рода *Candida*.

Таблица 2. Частота дисбиотических проявлений при анализе представителей микробиоты толстой кишки у жителей г. Архангельска (%) по данным ПЦР

Table 2. The frequency dysbiotic manifestations during analysis of representatives of the colon microbiota in residents of Arkhangelsk (%) according to PCR data

Класс	Порядок	Семейство	Род / вид	Дисбиотические проявления	
				дефицит	избыток
Тип <i>Bacillota</i> (ранее <i>Firmicutes</i>)					
<i>Bacilli</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	100	
		<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus spp.</i>		13,95
	<i>Bacillales</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		4,65
<i>Clostridia</i>	<i>Eubacteriales</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridioides difficile</i>		2,33
		<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Roseburia inulinivorans</i>	20,93	11,63
			<i>Blautia spp.</i>	72,1	
			<i>Agathobacter rectalis</i> (<i>Eubacterium rectale</i>)	37,2	

Продолжение табл. 2

Класс	Порядок	Семейство	Род / вид	Дисбиотические проявления	
				дефицит	избыток
Тип <i>Bacteroidota</i> (ранее <i>Bacteroidetes</i>)					
<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides spp.</i>		4,66
		<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella spp.</i>		6,97
Тип <i>Pseudomonadota</i> (ранее <i>Proteobacteria</i>)					
<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter spp.</i>		2,33
			<i>Enterobacter spp.</i>		23,26
			<i>Klebsiella pneumoniae</i>		4,66
			<i>Klebsiella oxytoca</i>		2,33
	<i>Moraxellales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>	60,46	6,97
Тип <i>Actinomycetota</i> (<i>Actinobacteria</i>)					
<i>Actinomycetes</i>	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	81,4	
Тип <i>Fusobacteriota</i> (ранее <i>Fusobacteria</i>)					
<i>Fusobacterii</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>		16,28
Тип <i>Euryarchaeota</i>					
<i>Methanobacteria</i>	<i>Methanobacteriales</i>	<i>Methanobacteriaceae</i>	<i>Methanosphaera stadmanae</i>		4,65

При анализе частоты выделения представителей порядка *Lactobacillales* был обнаружен значительный дефицит лактобактерий: у всех обследуемых (100 %) ниже референсных значений (< 5 lg КОЕ/г). *Streptococcus spp.* регистрировали в пределах референсных значений в 86,05 % случаев, у 13,95% – обнаружены в избытке (> 8 lg КОЕ/г). В 4,65 % случаев *S. aureus* выделяли выше референсных значений (> 4 lg КОЕ/г).

Внутри класса *Clostridia* был отмечен дефицит представителей порядка *Eubacteriales* за счет семейства *Lachnospiraceae* (*Blautia spp.* – 72,1 %, *Roseburia inulinivorans* – 20,93 %, *Agathobacter rectalis* – 37,2 %). В 2,33 % случаев регистрировали избыток *Clostridioides difficile* (5 lg КОЕ/г). Представители порядка *Tissierellales* (*Parvimonas micra*) у всех обследуемых были в норме (не обнаружены).

Представители типа *Bacteroidota* (ранее *Bacteroidetes*) – *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides spp.* и *Prevotella spp.* были в пределах референсных значений. Небольшой избыток *Bacteroides spp.* (> 12 lg КОЕ/г) и *Prevotella spp.* (> 11 lg КОЕ/г) регистрировали в 4,66 и 6,97 % случаев соответственно.

Среди типа *Pseudomonadota* (ранее *Proteobacteria*) был обнаружен резкий дефицит *Escherichia coli* у 60,46 % обследуемых (< 6 lg КОЕ/г), энтеропатогенные представители *E. coli* отсутствовали. Выявлены условно-патогенные представители порядка *Enterobacteriales* в 32,58% случаев выше референсных значений (> 4 lg КОЕ/г), в том числе: *Enterobacter spp.* – 23,26 %, *Klebsiella pneumoniae* – 4,66 %, *Klebsiella oxytoca* – 2,33 %, *Citrobacter spp.* – 2,33 %. Неферментирующие грамотрицательные бактерии *Acinetobacter spp.* выше нормы обнаружены в 6,98 % случаев (> 6 lg КОЕ/г).

Дефицит бифидобактерий был выявлен в 81,4 % случаев (< 9 lg КОЕ/г). Повышенные уровни *Fusobacterium nucleatum* установлены у 16,28 % обследуемых. В 4,65 % случаев численность представителей типа *Euryarchaeota* была выше нормы (> 6 lg КОЕ/г) за счет *Methanosphaera stadmanae*, при этом другой представитель данного типа – *Methanobrevibacter smithii*, был в пределах нормы у всех обследуемых. Аналогично численность грибов рода *Candida* не превышала нормы (< 4 lg КОЕ/г) у всех участников исследования.

При изучении микробиоты толстой кишки при использовании культурального метода (табл. 3) регистрировали резкий дефицит *Lactobacillus spp.* в 97,67 %, в том числе в 41,86 % < 1 lg КОЕ/г, в 13,95 % < 5 lg КОЕ/г. Значительный дефицит *Enterococcus spp.* менее 5 lg КОЕ/г регистрировали в 51,16% случаев. Обнаружение *S. aureus* отмечали у 11,63 % обследуемых, в том числе у 4,65 % в количестве > 4 lg КОЕ/г. Представители *Clostridium spp.* обнаружены у 81,4% лиц, в том числе > 5 lg КОЕ/г в 18,6 % случаев. Дефицит *Bacteroides spp.* регистрировали в 27,91 % случаев (< 9 lg КОЕ/г).

Таблица 3. Частота дисбиотических проявлений при анализе культивируемых представителей микробиоты толстой кишки у жителей г. Архангельска (%)
 Table 3. Detection dysbiotic manifestations during analysis of cultivated representatives of the colon microbiota in residents of Arkhangelsk (%)

Класс	Порядок	Семейство	Микроорганизм	Дисбиотические проявления	
				дефицит	избыток
Тип <i>Bacillota</i> (ранее <i>Firmicutes</i>)					
<i>Bacilli</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	97,67	
		<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	51,16	
	<i>Bacillales</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>		4,65
<i>Clostridia</i>	<i>Eubacteriales</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium spp.</i>		18,6
Тип <i>Bacteroidota</i> (ранее <i>Bacteroidetes</i>)					
<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides spp.</i>	27,91	
Тип <i>Pseudomonadota</i> (ранее <i>Proteobacteria</i>)					
<i>Gammaproteo bacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Klebsiella spp.</i>		18,6
			<i>Escherichia coli</i> (типичная, лактоза +)	72,09	
Тип <i>Actinomycetota</i> (<i>Actinobacteria</i>)					
<i>Actinomycetes</i>	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	13,95	

Анализ типа *Pseudomonadota* выявил дефицит функционально значимых (лактоза+) *E. coli* в 72,09 % случаев (< 7 lg КОЕ/г). В 18,6 % наблюдений выделяли условно-патогенных представителей семейства *Enterobacteriaceae* – *Klebsiella spp.* в численности более 4 lg КОЕ/г; *K. pneumoniae* – 13,95 % и *K. oxytoca* – 4,65 %. Представители семейства *Morganellaceae* не выявлены. Грибы рода *Candida* (*C. tropicalis*) выделены у 2,33 % обследуемых в количестве 3,29 lg КОЕ/г.

Численность культивируемых представителей микробиоты толстой кишки, обнаруженная культуральным и молекулярно-генетическим методом, представлена в таблице 4. Это сравнение проводилось для оценки комплексного применения данных методов при диагностике микробиоты толстого кишечника. Сравнение количественных данных проводилось с помощью непараметрического Критерия Вилкоксона, при котором для каждой группы микроорганизмов, выявленных двумя методами, вычислялся уровень статистической значимости.

Среди порядка *Lactobacillales* были выявлены статистически значимые различия содержания *Lactobacillus spp.* ($p < 0,001$) и *Enterococcus spp.* ($p < 0,001$) в зависимости от метода выделения. *Streptococcus spp.* регистрировали только ПЦР в средней численности 6,6 lg КОЕ/г. Количество *S. aureus* обнаружено в равных соотношениях 5,3 и 5,12 lg КОЕ/г ПЦР и культуральным методом соответственно. Однако *Bacteroides spp.* выявляли в большей численности при ПЦР-исследовании – 11,48 lg КОЕ/г, так как культуральным методом могли выявить содержание бактерии не более чем 10^9 КОЕ/г (производили посев разведения 10^{-9}). Среднее содержание *Clostridium spp.*, обнаруженное бактериологическим методом, составило 5 lg КОЕ/г, а ПЦР – менее 5 lg КОЕ/г.

Внутри типа *Pseudomonadota* значимых количественных различий не было обнаружено. Численность *K. pneumoniae* колебалась от 4,52 до 6 lg КОЕ/г, *K. oxytoca* – от 4,9 до 5,82 lg КОЕ/г. Типичная *E. coli* культуральным методом была выявлена на порядок выше, чем при ПЦР.

При анализе представителей типа *Actinomycetota* (*Bifidobacterium spp.*) были обнаружены статистически значимые различия в их содержании, при этом культуральным методом численность была выше на 1 lg КОЕ/г ($p < 0,001$) по сравнению с ПЦР. Молекулярно-генетическим методом грибы рода *Candida* регистрировали менее 3 lg КОЕ/г, когда при посеве на питательную среду смогли идентифицировать данный микроорганизм в количестве 3,29 lg КОЕ/г в 2,33 % случаев.

В итоге, сравнительный анализ численности культивируемых представителей микробиоты толстой кишки в зависимости от метода исследования подтвердил, что возможно комплексное использование этих двух методов. Так, не было обнаружено значимых различий в количестве между условно-патогенными энтеробактериями, функциональной *E. coli*, *Staphylococcus aureus*.

Таблица 4. Сравнительный анализ культивируемых представителей микробиоты толстой кишки в зависимости от метода исследования (lg КОЕ/г)

Table 4. Comparative analysis of the cultivated representatives of the colon microbiota, depending on the research method (lg CFU/g)

Класс	Порядок	Семейство	Микроорганизм	ПЦР	Бактериологический метод
Тип <i>Bacillota</i> (ранее <i>Firmicutes</i>)					
<i>Bacilli</i>	<i>Lactobacillales</i>	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus spp.</i>	<5,0 *	4,81 (< 1; 5,84)*
		<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	6,6 (6,3; 7,41)	0
		<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	5*	5,0 (< 3; 5,7)*
	<i>Bacillales</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	5,3 (5,0; 5,6)	5,12 (4,51; 5,42)
<i>Clostridia</i>	<i>Eubacteriales</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium spp.</i>	–	5,0
			<i>Clostridioides difficile</i>	5,0	–
			<i>Clostridium perfringens</i>	0	
Тип <i>Bacteroidota</i> (ранее <i>Bacteroidetes</i>)					
<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides spp.</i>	11,48 (10,69; 11,84)*	9,0 (7,0; 9,0)*
Тип <i>Pseudomonadota</i> (ранее <i>Proteobacteria</i>)					
<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	5,0	
			<i>Enterobacter spp.</i>	5,57 (5,0; 6,3)	
			<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,80 (5,6; 6,0)	4,75 (4,52; 4,99)
			<i>Klebsiella oxytoca</i>	4,9	5,62 (4,52; 5,82)
			<i>Escherichia coli</i>	5,48 (5,0; 6,48)	6,52 (5,21; 7,47)
			<i>Escherichia coli enteropathogenic</i>	0	
			<i>Salmonella spp.</i>	0	
			<i>Shigella spp.</i>	0	
		<i>Morganellaceae</i>	<i>Proteus vulgaris/mirabilis</i>	0	0
Тип <i>Actinomycetota</i> (<i>Actinobacteria</i>)					
<i>Actinomycetes</i>	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	7,93 (7,3; 8,98)*	9,0*
Тип <i>Ascomycota</i>					
<i>Saccharomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	<i>Debaryomycetaceae</i>	<i>Candida spp.</i>	0	3,29

Примечание: * – уровень значимости $p < 0,05$

Note: * – The level of significance $p < 0,05$

Результаты корреляционного анализа (рис. 1) выявили наличие статистически значимых прямых связей средней степени силы при культуральном исследовании между *Bifidobacterium spp.* и *Bacteroides spp.* ($p = 0,027$), *Enterococcus spp.* и *S. aureus* ($p = 0,025$), *Enterococcus spp.* и *Klebsiella spp.* ($p = 0,044$), *S. aureus* и *Klebsiella spp.* ($p = 0,003$).

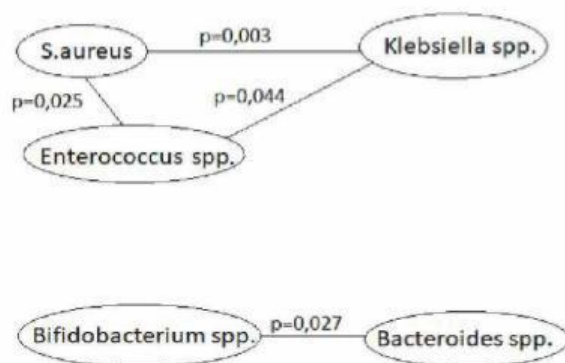


Рисунок 1. Корреляционный анализ между микроорганизмами по данным бактериологического исследования

Figure 1. Correlation analysis among microorganisms according to bacteriological research

При анализе результатов молекулярно-генетического метода исследования были обнаружены статистически значимые прямые и обратные связи средней степени силы (рис. 2). Величина коэффициента корреляции (r) колебалась от 0,31 до 0,55. Была обнаружена достоверная прямая корреляция между *Akkermansia muciphila* и *Bifidobacterium spp.* ($p = 0,001$), *A. muciphila* и *Metanobrevibacter smithii* ($p = 0,004$). *Bifidobacterium spp.* достоверно коррелирует с *Lactobacillus spp.* ($p = 0,012$), со *Streptococcus spp.* ($p = 0,012$), *Faecalibacterium prausnitzii* ($p = 0,001$) и *M. smithii* ($p = 0,018$).

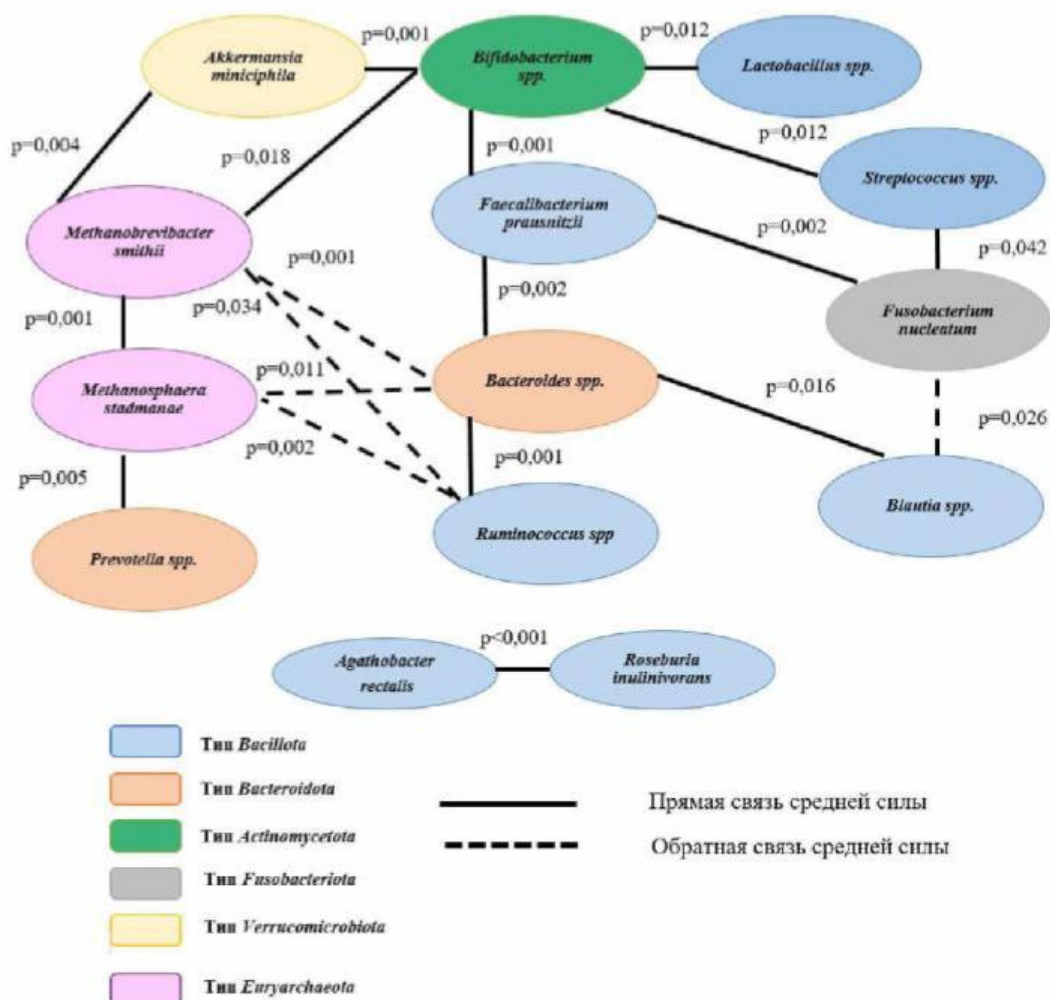


Рисунок 2. Корреляционный анализ между микроорганизмами по данным ПЦР-исследования
Figure 2. Correlation analysis among microorganisms according to PCR research

Обнаружена прямая связь между *Streptococcus spp.* и *Fusobacterium nucleatum* ($p = 0,042$). *F. nucleatum* имеет прямую корреляцию с *F. prausnitzii* ($p = 0,002$) и обратную связь с *Blautia spp.* ($p = 0,026$). *Blautia spp.*, в свою очередь, достоверно коррелирует с *Bacteriodes spp.* ($p = 0,016$). *Bacteriodes spp.* коррелирует с *F. prausnitzii* ($p = 0,002$), *Ruminococcus spp.* ($p = 0,001$) и имеет обратную связь с *M. smithii* ($p = 0,001$), *M. stadmanae* ($p = 0,011$). В свою очередь, *M. smithii* достоверно прямо коррелирует с *M. stadmanae* ($p = 0,001$) и обратно коррелирует с *Ruminococcus spp.* ($p = 0,034$). Указанные корреляционные связи свидетельствуют об антагонистическом взаимодействии между представителями *Bacillota* (*Ruminococcus spp.*) и *Euryarchaeota* (*M. stadmanae*, *M. smithii*), *Bacteroidota* (*Bacteriodes spp.*) и *Euryarchaeota* (*M. stadmanae*, *M. Smithii*), что подтверждается обратными связями.

Обратная корреляция была обнаружена между *M. stadmanae* и *Ruminococcus spp.* ($p = 0,002$), а между *M. stadmanae* и *Prevotella spp.* наблюдается достоверная прямая связь ($p = 0,005$). *Agathobacter rectalis* (*Eubacterium rectale*) имеет достоверную прямую корреляцию с *Roseburia inulinivorans* ($p = 0,001$).

Достоверные прямые связи между базовыми представителями свидетельствуют о взаимовыгодном влиянии между основными участниками ядра микробиоты. Базовыми доминирующими типами являются *Bacillota* и *Bacteroidota*, среди представителей которых преобладают прямые корреляции, тогда как тип *Euryarchaeota* дает больше обратных связей с отдельными представителями типа *Bacillota* (*Ruminococcus spp.*) и *Bacteroidota* (*Bacteriodes spp.*).

Комплексное изучение микробиоты жителей г. Архангельска выявило дефицит облигатных представителей микробиоты толстой кишки: *Lactobacillus spp.*, *E. coli*. и *Bifidobacterium spp.* Функциональная *E. coli* (лактоза+) является продуцентом сукцината, а лактобактерии и бифидобактерии – лактата и ацетата. *Faecalibacterium prausnitzii*, используя эти метаболиты, синтезируют бутират, основной источник энергии для нормальных эпителиальных клеток толстой кишки [14]. Бутират снижает образование провоспалительных цитокинов: интерлейкина 6 (ИЛ-6), интерлейкина 12 (ИЛ-12), также способствует хорошей барьерной функции, поддерживая гомеостаз слизистой толстой кишки [15]. *F. Prausnitzii* обеспечивает достаточный уровень содержания *Bacteriodes* и *Fusobacterium nucleatum*, которая в свою очередь обеспечивает обратную связь с *Blautia* и формирует ее дефицит в 72,1 % случаев.

Дисбиоз, связанный с низким синтезом лактата и ацетата за счет дефицита базовых продуцентов, формируется у обследуемых вследствие недостаточного количества *Roseburia inulinivorans* (20,93 %) – продуцента масляной кислоты, которая стимулирует моторику толстой кишки, поддержание иммунитета и обладает противовоспалительными свойствами [16].

Снижение основных бактерий биопленки – бифидобактерий и лактобактерий, дестабилизирует микробиоценоз. Это ухудшает барьерную функцию, повышая проницаемость кишечной стенки для условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* [17], которые обнаружены в 32,58 % случаев.

Симбиотические взаимодействия обеспечивают *Bacteriodes*. Как базовый представитель микробиоты толстой кишки он регулирует иммунную систему, поддерживает целостность кишечного барьера и усвоение неперевариваемых углеводов. *Bacteriodes spp.* также относятся к продуцентам бутирата, что обеспечивает иммунный гомеостаз хозяина как локально, так и системно, способствуя преимущественной дифференцировке противовоспалительных клеток Treg / Th2, подавляя синтез провоспалительных клеток Th1 / Th17, тем самым уменьшая воспаление в толстой кишке [18].

Численность *Bacteriodes spp.* в кишечнике увеличивается при преобладании в рационе белка и животного жира, тогда как диета с высоким содержанием углеводов связана с ростом численности *Prevotella* [19]. Исследования показали, что люди, предпочитающие употреблять в свой рацион растительную пищу, имеют высокую численность *Prevotella spp.* [20] и меньшую *Agathobacter rectalis* (*E. rectale*), которая является продуцентом бутирата [21].

Fusobacterium nucleatum оказывает как благоприятное, так и токсическое воздействие на клетки хозяева. Данный микроорганизм производит значительные количества как бутирата, так и сероводорода, первый из которых является признанным источником энергии для колоноцитов с известными противовоспалительными эффектами, а второй как высокотоксичный конечный продукт метаболизма цистеина, который ингибирует эффект использования бутирата колоноцитами [22]. Избыточное количество *F. nucleatum*, обнаруженное в 16,28% случаев, коррелирует с избытком *Streptococcus spp.* (прямая связь, $p = 0,042$) и дефицитом *Blautia spp.* (обратная связь, $p = 0,026$).

Употребление большого количества белка отражается на составе микробиоты у здоровых людей. При анализе микробиоты у спортсменов было установлено, что потребление протеинового порошка связано с уменьшением количества *Lachnospiraceae* (*Roseburia*, *Blautia*, *Coprococcus*),

Lactobacillales, *Bacilli* и *Bifidobacterium longum*, а также с более высоким содержанием *Bacteroidota* (ранее *Bacteroidetes*) и меньшим количеством *Bacillota* (ранее *Firmicutes*) по сравнению с плацебо [23].

Имеются данные о взаимодействии метаногенных бактерий с другими представителями микробиоты толстой кишки. *B. thetaiotaomicron* стимулирует метаногенез *M. smithii*, и последняя усиливает ферментацию пищевых фруктанов *B. thetaiotaomicron* [24]. *Methanosphaera stadtmanae* – другой кишечный метаноген у человека, который получает энергию для роста, используя водород для восстановления метанола до метана. Для роста ему требуются ацетат, двуокись углерода, изолейцин, аммоний и тиамин [25]. Однако обратные корреляции *Bacteroides spp.* с *M. smithii* ($p = 0,001$) и *M. stadtmanae* ($p = 0,011$) и выявленный избыток *Bacteroides spp.* (4,66 %) способствуют снижению метанопродуцирующих бактерий.

Ацинетобактерии как типичные условно-патогенные микроорганизмы вызывают воспаление преимущественно на фоне иммуносупрессии. Они активно транслоцируются через эпителиальные барьеры, вызывая разрушение клеток и межклеточного вещества [26]. У здоровых лиц г. Архангельска на фоне дефицита базовых представителей отмечали избыток *Acinetobacter spp.* в 6,97 % случаев.

Akkermansia muciniphila, участвуя в расщеплении слизи, придает положительный побочный эффект: клетки кишечника стимулируют к продукции слизи, что поддерживает «здоровый» кишечник. Разложившаяся слизь служит источником энергии для *F. prausnitzii*, продуцирующим масляную кислоту. Существуют также географические различия: у европейцев отмечена более высокая численность *A. muciniphila* по сравнению с китайцами [27].

Дефицит представителей микробиоты является актуальным вопросом изучения у жителей северных регионов. Существует несколько возможных причин низкой численности бактерий рода *Blautia*, что требует дополнительного исследования. Данный представитель микробиоты толстой кишки продуцирует ацетат, лактат и сукцинат. Характер питания влияет на частоту ее распространения, однако недостаточно данных, раскрывающих влияние тех или иных продуктов питания. Так, численность бактерий рода *Blautia* снижалась после восьми недель низкокалорийной диеты [28].

Исследования показывают, что состав микробиоты толстой кишки может отличаться в зависимости от географического положения или этнической принадлежности.

Сравнение микробиоты толстой кишки в разных частях света показало, что у жителей США преобладают *Firmicutes*, у населения Японии – *Actinobacteria*, *Bifidobacterium* и *Clostridium*, у корейцев – *Bacteroides*, *Prevotella* и *Faecalibacterium*, у жителей Китая – бактериоиды [29]. В некоторых странах, таких как Малави, Венесуэла и Перу, доминирует род *Prevotella*. Также среди европейских стран было показано доминирование: *Eubacterium* в России, *Clostridium* в Швеции и *Blautia* в Австрии [30].

В популяциях Америки и Ямайки доминировал род *Bacteroides*, в то время как в популяции индейцев преобладал род *Prevotella* [31]. В кишечном микробиоме здоровых людей из Нидерландов доминировали представители семейства *Lachnospiraceae*, включая *Ruminococcus* и *Roseburia* [32]. Некоторые исследователи объясняют недостаток бактерий рода *Blautia* географическими особенностями, характерными для жителей отдельных регионов, например, Китая [33], что подтверждается представленным пилотным исследованием – дефицит *Blautia spp.* у жителей г. Архангельска 72,1 %.

Имеются результаты исследования, проведенного на небольшой выборке здоровых людей (Москва), где оценивали характер микроорганизмов при использовании набора реагентов «Колонифлор-16», но с меньшим числом показателей (8) [34]. Все определяемые микроорганизмы у жителей столицы были выше по сравнению с жителями г. Архангельска. Например, численность *Lactobacillus spp.* составила 9,2 lg КОЕ/г, *Bifidobacterium spp.* – 11,2 lg КОЕ/г, *E. coli* – 9,7 lg КОЕ/г. В представленном исследовании выявлен дефицит *Lactobacillus spp.* (< 7 lg КОЕ/г) в 100% случаев, *Bifidobacterium spp.* (< 9 lg КОЕ/г) – 81,4 %, *E. coli* (< 6 lg КОЕ/г) – 60,46 %.

Общепринято, что люди, проживающие в северных регионах, согласно «правилу Бергмана», имеют большую массу тела по сравнению с популяциями, проживающими в южных широтах. Увеличение извлечения энергии и накопления жира может быть более важным для людей в холодных регионах по сравнению с жителями теплых регионов в качестве экологической адаптации к климату. Исследователи обнаружили положительную корреляцию между *Bacillota* (*Firmicutes*) и северными широтами и отрицательную корреляцию в отношении *Bacteroidota*. У лиц младше 60 лет все значимые корреляции во всех возрастных группах были в направлениях, ожидаемых правилом Бергмана [35]. Однако в представленном исследовании при оценке соотношения были получены значения *Bacteroides spp.* / *Faecalibacterium prausnitzii* от 1 до 333, что говорит о превалировании типа *Bacteroidota* за счет *B. fragilis*.

В доступной литературе недостаточно работ по изучению микробиоты у здоровых лиц разных географических регионов, особенно в северных широтах Арктической зоны, что является актуальным для продолжения данного исследования.

Необходимость расширения исследований характера микробиоты человека, проживающего в различных географических регионах, может быть обусловлена влиянием особенностей рациона питания и местоположения на развитие и формирование архитектуры микробиома человека.

Заключение. Анализ биоразнообразия микробиоты с использованием двух методов (полимеразной цепной реакции и культурального) позволяет оценить ее характер, изучить функциональные свойства культивируемых представителей, а также предоставляет возможность отбирать облигатные культуры для изучения их физиологических характеристик и использовать в качестве пробиотических культур в условиях Арктической зоны Российской Федерации.

В ходе представленного исследования были выявлены особенности микробиоты у жителей г. Архангельска. У всех обследуемых отмечался дисбиоз за счет снижения лактобактерий, дефицита типичной *Escherichia coli*, бифидобактерий, энтерококков, *Roseburia inulinivorans*, *Blautia spp.*, *Agathobacter rectalis (Eubacterium rectale)*, а также избытка *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, условно-патогенных представителей порядка *Enterobacteriales*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Conflict of interest. The authors declare that there are no conflicts of interest related to the publication of this article.

Вклад авторов. Кукалевская Наталья Николаевна – руководство исследованием, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Бажукова Татьяна Александровна – дизайн исследования, рецензирование; Давидович Наталия Валерьевна – редактирование, интерпретация результатов; Сабанаев Михаил Алексеевич – сбор материала и анализ данных; Хомеча Валерия Александровна – сбор материала и анализ данных

Authors' contribution. Kukalevskaya Natalya Nikolaevna – research management, approval of the final version of the article for publication; Bazhukova Tatyana Aleksandrovna – study design, review; Davidovich Natalia Valerievna – editing, interpretation of results; Sabanaev Mikhail Alekseevich – material collection and data analysis; Khomecha Valeria Aleksandrovna – material collection and data analysis

Источник финансирования. Работа поддержана грантом в рамках конкурса на лучшие проекты молодых ученых по приоритетным направлениям научного и инновационного развития ФГБОУ ВО СГМУ в 2022 году.

Source of funding. The work was supported by a grant as part of a competition for the best projects of young scientists in priority areas of scientific and innovative development of the FSBEI HE NSMU in 2022.

Список источников

1. Beam A., Clinger E., Hao L. Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota // *Nutrients*. 2021. Vol. 13 (8). P. 2795. doi: 10.3390/nu13082795.
2. Сафина Д. Д., Абдулхаков С. Р., Амиров Н. Б. Микробиота кишечника и ее значение для здоровья человека // *Вестник современной клинической медицины*. 2021. Т. 14, вып. 5. С. 81–94. doi: 10.20969/VSKM.2021.14(5).81-94.
3. Ling Z., Liu X., Cheng Y., Yan X., Wu S. Gut microbiota and aging // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022. Vol. 62 (13). P. 3509–3534. doi: 10.1080/10408398.2020.1867054.
4. Lange K., Buerger M., Stallmach A., Bruns T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota // *Digestive Disease*. 2016;34(3):260-268. doi: 10.1159/000443360.
5. Campaniello D., Corbo M. R., Sinigaglia M. et al. How Diet and Physical Activity Modulate Gut Microbiota: Evidence, and Perspectives // *Nutrients*. 2022. Vol. 14 (12). P. 2456. doi: 10.3390/nu14122456.
6. van der Merwe M. Gut microbiome changes induced by a diet rich in fruits and vegetables // *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2021. Vol. 72 (5). P. 665–669. doi: 10.1080/09637486.2020.1852537.
7. Rahayu E. S., Utami T., Mariyatun M. et al. Gut microbiota profile in healthy Indonesians // *World Journal of Gastroenterology*. 2019. Vol. 25 (12). P. 1478–1491. doi: 10.3748/wjg.v25.i12.1478.
8. Шантырь И. И., Родионов Г. Г., Санников М. В., Светкина Е. В., Колобова Е. А. Оценка микробиоты кишечника у оперативного состава МЧС России, работающего в Арктической зоне России // *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2022. Т. 2. С. 72–81. doi: 10.25016/2541-7487-2022-0-2-72-81.
9. Саликова С. П., Власов А. А., Гриневич В. Б. Адаптация человека к условиям Крайнего Севера: фокус на коррекцию микробно-тканевого комплекса желудочно-кишечного тракта // *Экология человека*. 2021. Т. 28, № 2. С. 4–12. doi: 10.33396/1728-0869-2021-2-4-12.
10. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004-2003. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200119089>.

11. Иванов В. П., Бойцов А. Г., Коваленко А. Д., Ластовка О. Н., Нилова Е. Л. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника. Санкт-Петербург: Центр Госсанэпиднадзора, 2002. 31 с.
12. Определитель бактерий Берджи / пер. с англ. Г. А. Заварзина; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Д. Стейли, С. Уильямс. Москва: Мир, 1997. 1232 с.
13. Унгурияну Т. Н., Гржибовский А. М. Корреляционный анализ с использованием пакета статистических программ STATA // Экология человека. 2014. Т. 21, № 9. С. 60–64. doi: 10.17816/humeco17210.
14. Recharla N., Geesala R., Shi X. Z. Gut Microbial Metabolite Butyrate and Its Therapeutic Role in Inflammatory Bowel Disease: A Literature Review // *Nutrients*. 2023. Vol. 15 (10). P. 2275. doi: 10.3390/nu15102275.
15. Bertani L., Ribaldone D. G., Bellini M., Mumolo M. G., Costa F. Inflammatory Bowel Diseases: Is There a Role for Nutritional Suggestions? // *Nutrients*. 2021. Vol. 13 (4). P. 1387. doi:10.3390/nu13041387.
16. Tamanaï-Shacoori Z., Smida I., Bousarghin L. et al. Roseburia spp.: a marker of health? // *Future Microbiology*. 2017. Vol. 12. P. 157–170. doi: 10.2217/fmb-2016-0130.
17. Шейбак В. М., Николаева И. В., Павлюковец А. Ю. Микробиоценоз толстого кишечника и содержание свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе крыс // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2014. № 3. С. 50–58.
18. Li K., Hao Z., Du J., Gao Y., Yang S., Zhou Y. Bacteroides thetaiotaomicron relieves colon inflammation by activating aryl hydrocarbon receptor and modulating CD4+T cell homeostasis // *International Collaboration*. 2021. Vol. 90. P. 107183. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107183.
19. König R. S., Albrich W. C., Kahlert C. R. et al. The Gut Microbiome in Myalgic Encephalomyelitis (ME)/Chronic Fatigue Syndrome (CFS) [published correction appears in *Front Immunol*. 2022 Mar 30; 13:878196] // *Frontiers in Immunology*. 2022. Vol. 12. P. 628741. doi: 10.3389/fimmu.2021.628741.
20. Lv M., Zhang J., Deng J. et al. Analysis of the relationship between the gut microbiota enterotypes and colorectal adenoma // *Frontiers in Microbiology*. 2023. Vol. 14. P. 1097892. doi: 10.3389/fmicb.2023.1097892.
21. Tap J., Störsrud S., Le Nevé B. et al. Diet and gut microbiome interactions of relevance for symptoms in irritable bowel syndrome // *Microbiome*. 2021. Vol. 9 (1). P. 74. doi: 10.1186/s40168-021-01018-9.
22. Allen-Vercoe E., Strauss J., Chadee K. Fusobacterium nucleatum: an emerging gut pathogen? // *Gut Microbes*. 2011. Vol. 2 (5). P. 294–298. doi: 10.4161/gmic.2.5.18603.
23. Hughes R. L., Holscher H. D. Fueling Gut Microbes: A Review of the Interaction between Diet, Exercise, and the Gut Microbiota in Athletes // *Advances in Nutrition*. 2021. Vol. 12 (6). P. 2190–2215. doi: 10.1093/advances/nmab077.
24. Kim W., Whitman W. B. Methanogens // *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier, 2014. P. 602–606. doi: 10.1016/B978-0-12-385112-3.00003-2.
25. Miller T. L., Wolin M. J. Methanosphaera stadtmaniae gen. nov., sp. nov.: a species that forms methane by reducing methanol with hydrogen // *Archives of Microbiology*. 1985. Vol. 141 (2). P. 116–122. doi: 10.1007/BF00423270.
26. Чеботарь И. В., Лазарева А. В., Масалов Я. К., Михайлович В. М., Маянский Н. А. Acinetobacter: микробиологические, патогенетические и резистентные свойства // Вестник Российской академии медицинских наук. 2014. Т. 69, № 9–10. С. 39–50. doi: 10.15690/vramn.v69i9-10.1130.
27. Derrien M., Vaughan E. E., Plugge C. M., de Vos W. M. Akkermansia muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004. Vol. 54, part 5. P. 1469–1476. doi: 10.1099/ijs.0.02873-0.
28. Jian C., Silvestre M. P., Middleton D. et al. Gut microbiota predicts body fat change following a low-energy diet: a preview intervention study // *Genome Medicine*. 2022. Vol. 14 (1). P. 54. doi: 10.1186/s13073-022-01053-7.
29. Nam Y. D., Jung M. J., Roh S. W., Kim M. S., Bae J. W. Comparative analysis of Korean human gut microbiota by barcoded pyrosequencing // *PLoS One*. 2011. Vol. 6 (7). P. e22109. doi: 10.1371/journal.pone.0022109.
30. Nishijima S., Suda W., Oshima K. et al. The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness // *DNA Research*. 2016. Vol. 23 (2). P. 125–133. doi: 10.1093/dnares/dsw002.
31. Kao C. C., Hsu J. W., Dwarkanath P. et al. Indian women of childbearing age do not metabolically conserve arginine as do American and Jamaican women // *Journal of Nutrition*. 2015. Vol. 145 (5). P. 884–892. doi: 10.3945/jn.114.208231.
32. Bonder M. J., Tigchelaar E. F., Cai X. et al. The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome // *Genome Medicine*. 2016. Vol. 8 (1). P. 45. doi: 10.1186/s13073-016-0295-y.
33. Zhang J., Guo Z., Xue Z. et al. A phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities // *International Society for Microbial Ecology Journal*. 2015. Vol. 9 (9). P. 1979–1990. doi: 10.1038/ismej.2015.11.
34. Маркова Ю. М., Полянина А. С., Минаева Л. П., Шевелева С. А. Апробация нового способа подготовки образцов для детекции популяций кишечной микробиоты методом полимерной цепной реакции // Вопросы питания. 2018. № 5. С. 34–35. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10117.
35. Suzuki T. A., Worobey M. Geographical variation of human gut microbial composition // *Biology Letters*. 2014. Vol. 10 (2). P. 20131037. doi: 10.1098/rsbl.2013.1037.

References

1. Beam A., Clinger E., Hao L. Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota. *Nutrients*. 2021; 13 (8): 2795. doi: 10.3390/nu13082795.
2. Safina D. D., Abdulkhakov S. R., Amirov N. B. Gut microbiota and its importance for human health. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny = The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine*. 2021; 14 (5): 81–94. doi: 10.20969/VSKM.2021.14(5).81-94 (In Russ.).
3. Ling Z., Liu X., Cheng Y., Yan X., Wu S. Gut microbiota and aging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022; 62 (13): 3509–3534. doi: 10.1080/10408398.2020.1867054.
4. Lange K., Buerger M., Stallmach A., Bruns T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Digestive Disease*. 2016; 34 (3): 260–268. doi: 10.1159/000443360.
5. Campaniello D., Corbo M. R., Sinigaglia M. et al. How Diet and Physical Activity Modulate Gut Microbiota: Evidence, and Perspectives. *Nutrients*. 2022; 14 (12): 2456. doi: 10.3390/nu14122456.
6. van der Merwe M. Gut microbiome changes induced by a diet rich in fruits and vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2021; 72 (5): 665–669. doi: 10.1080/09637486.2020.1852537.
7. Rahayu E. S., Utami T., Mariyatun M. et al. Gut microbiota profile in healthy Indonesians. *World Journal of Gastroenterology*. 2019; 25 (12): 1478–1491. doi: 10.3748/wjg.v25.i12.1478.
8. Shantyr I. I., Rodionov G. G., Sannikov M. V., Svetkina E. V., Kolobova E. A. Evaluation of the intestinal microbiota in operational staff of the Russian EMERCOM working in the Arctic zone of Russia. *Mediko-biologicheskiye i sotsialno-psikhologicheskiye problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh = Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2022; 2: 72–81. doi: 10.25016/2541-7487-2022-0-2-72-81 (In Russ.).
9. Salikova S. P., Vlasov A. A., Grinevich V. B. Human adaptation to the conditions of the far north: emphasis on the correction of the microbial-tissue complex of the gastrointestinal tract. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*. 2021; 28 (2): 4–12. doi: 10.33396/1728-0869-2021-2-4-12 (In Russ.).
10. Protokol vedeniya bolnykh. Disbakterioz kishechnika: otraslevoy standart OST 91500.11.0004-2003 = Protocol for patient management. Intestinal dysbacteriosis: industry standard OST 91500.11.0004-2003. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200119089> (In Russ.).
11. Ivanov V. P., Boytsov A. G., Kovalenko A. D., Lastovka O. N., Nilova E. L. Sovershenstvovaniye metodov diagnostiki disbakternoza tolstogo kishechnika = Improving methods for diagnosing dysbacteriosis of the large intestine. St. Petersburg: State Sanitary and Epidemiological Surveillance Center; 2002: 31 p. (In Russ.).
12. Opredelitel bakteriy Berdzhii = Determinant of bacteria Bergey. Ed. by J. Hoult, N. Krieg, P. Sneath, D. Staley, S. Williams. Moscow: Mir; 1997: 1232 p. (In Russ.).
13. Unguryanu T. N., Gribovski A. M. Correlation analysis using stata. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*. 2014; 21 (9): 60–64. doi: 10.17816/humeco17210 (In Russ.).
14. Recharla N., Geesala R., Shi X. Z. Gut Microbial Metabolite Butyrate and Its Therapeutic Role in Inflammatory Bowel Disease: A Literature Review. *Nutrients*. 2023; 15 (10): 2275. doi: 10.3390/nu15102275.
15. Bertani L., Ribaldone D. G., Bellini M., Mumolo M. G., Costa F. Inflammatory Bowel Diseases: Is There a Role for Nutritional Suggestions? *Nutrients*. 2021; 13 (4): 1387. doi: 10.3390/nu13041387.
16. Tamanai-Shacoori Z., Smida I., Bousarghin L. et al. Roseburia spp.: a marker of health? *Future Microbiology*. 2017; 12: 157–170. doi: 10.2217/fmb-2016-0130.
17. Sheybak V. M., Nikolaeva I. V., Pavlyukovets A. Yu. Microbiocenosis of the large intestine and the content of free amino acids in the microbial-tissue complex of rats. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of Vitebsk State Medical University*. 2014; 3: 50–58 (In Russ.).
18. Li K., Hao Z., Du J., Gao Y., Yang S., Zhou Y. Bacteroides thetaiotaomicron relieves colon inflammation by activating aryl hydrocarbon receptor and modulating CD4⁺T cell homeostasis. *International Collaboration*. 2021; 90: 107183. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107183.
19. König R. S., Albrich W. C., Kahlert C. R. et al. The Gut Microbiome in Myalgic Encephalomyelitis (ME)/Chronic Fatigue Syndrome (CFS) [published correction appears in *Front Immunol*. 2022 Mar 30; 13:878196]. *Frontiers in Immunology*. 2022; 12: 628741. doi: 10.3389/fimmu.2021.628741.
20. Lv M., Zhang J., Deng J. et al. Analysis of the relationship between the gut microbiota enterotypes and colorectal adenoma. *Front in Microbiology*. 2023; 14: 1097892. doi: 10.3389/fmicb.2023.1097892.
21. Tap J., Störsrud S., Le Nevé B. et al. Diet and gut microbiome interactions of relevance for symptoms in irritable bowel syndrome. *Microbiome*. 2021; 9 (1): 74. doi: 10.1186/s40168-021-01018-9.
22. Allen-Vercoe E., Strauss J., Chadee K. *Fusobacterium nucleatum*: an emerging gut pathogen? *Gut Microbes*. 2011; 2 (5): 294–298. doi: 10.4161/gmic.2.5.18603.
23. Hughes R. L., Holscher H. D. Fueling Gut Microbes: A Review of the Interaction between Diet, Exercise, and the Gut Microbiota in Athletes. *Advances in Nutrition*. 2021; 12 (6): 2190–2215. doi: 10.1093/advances/nmab077.
24. Kim W., Whitman W. B. Methanogens. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier; 2014: 602–606. doi: 10.1016/B978-0-12-385112-3.00003-2.
25. Miller T. L., Wolin M. J. *Methanosphaera stadtmaniae* gen. nov., sp. nov.: a species that forms methane by reducing methanol with hydrogen. *Archives of Microbiology*. 1985; 141 (2): 116–122. doi: 10.1007/BF00423270.

26. Chebotar I. V., Lazareva A. V., Masalov Y. K., Mikhailovich V. M., Mayanskii N. A. Acinetobacter: microbiological, pathogenetic and resistant properties. Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian academy of medical sciences. 2014; 69 (9–10): 39–50. doi: 10.15690/vramn.v69i9-10.1130 (In Russ.).
27. Derrien M., Vaughan E. E., Plugge C. M., de Vos W. M. Akkermansia muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2004; 54 (5): 1469–1476. doi: 10.1099/ijs.0.02873-0.
28. Jian C., Silvestre M. P., Middleton D. et al. Gut microbiota predicts body fat change following a low-energy diet: a PREVIEW intervention study. Genome Medicine. 2022; 14 (1): 54. doi: 10.1186/s13073-022-01053-7.
29. Nam Y. D., Jung M. J., Roh S. W., Kim M. S., Bae J. W. Comparative analysis of Korean human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. PLoS One. 2011; 6 (7): e22109. doi: 10.1371/journal.pone.0022109.
30. Nishijima S., Suda W., Oshima K. et al. The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness. DNA Research. 2016; 23 (2): 125–133. doi: 10.1093/dnares/dsw002.
31. Kao C. C., Hsu J. W., Dwarkanath P. et al. Indian women of childbearing age do not metabolically conserve arginine as do American and Jamaican women. Journal of Nutrition. 2015; 145 (5): 884–892. doi: 10.3945/jn.114.208231.
32. Bonder M. J., Tigchelaar E. F., Cai X. et al. The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome. Genome Medicine. 2016; 8 (1): 45. doi: 10.1186/s13073-016-0295-y.
33. Zhang J., Guo Z., Xue Z. et al. A phylo-functional core of gut microbiota in healthy young Chinese cohorts across lifestyles, geography and ethnicities. International Society for Microbial Ecology Journal. 2015; 9 (9): 1979–1990. doi: 10.1038/ismej.2015.11.
34. Markova Yu. M., Polyamina A. S., Minaeva L. P., Sheveleva S. A. Approbation of a new method for preparing samples for detection of intestinal microbiota populations using the polymer chain reaction method. Voprosy pitaniya = Nutrition Issues. 2018; 5: 34–35. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10117 (In Russ.).
35. Suzuki T. A., Worobey M. Geographical variation of human gut microbial composition. Biology Letters. 2014; 10 (2): 20131037. doi: 10.1098/rsbl.2013.1037.

Информация об авторах

Н. Н. Кукалевская, ассистент кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия, ORCID: 0000-0003-3371-1485, e-mail: n.kukalevskaya@yandex.ru;

Т. А. Бажукова, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия, ORCID: 0000-0002-7890-2341, e-mail: tbazhukova@yandex.ru;

Н. В. Давидович, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия, ORCID: 0000-0002-6414-9870, e-mail: nvdavidovich@gmail.com;

М. А. Сабанаев, студент, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия, ORCID: 0000-0001-5642-3019, e-mail: mix.sabanaeff@gmail.com;

В. А. Хомеча, студент, Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия, ORCID: 0009-0002-3632-9273, e-mail: lera.homecha@yandex.ru.

Information about the authors

N. N. Kukalevskaya, Assistant of the Department, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia, ORCID: 0000-0003-3371-1485, e-mail: n.kukalevskaya@yandex.ru;

T. A. Bazhukova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian, ORCID: 0000-0002-7890-2341, e-mail: tbazhukova@yandex.ru;

N. V. Davidovich, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Associate Professor of the Department, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian, ORCID: 0000-0002-6414-9870, e-mail: nvdavidovich@gmail.com;

M. A. Sabanaev, student, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian, ORCID: 0000-0001-5642-3019, e-mail: mix.sabanaeff@gmail.com;

V. A. Khomecha, student, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian, ORCID: 0009-0002-3632-9273, e-mail: lera.homecha@yandex.ru.

Статья поступила в редакцию 28.12.2023; одобрена после рецензирования 18.10.2024; принята к публикации 31.10.2024.

The article was submitted 28.12.2023; approved after reviewing 18.10.2024; accepted for publication 31.10.2024.