

## ОЦЕНКА ПРИСТЕНОЧНОЙ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Родионов Г.Г.<sup>1</sup>, Шантырь И.И.<sup>1</sup>, Светкина Е.В.<sup>1</sup>,  
Сарьян Э.С.<sup>1</sup>, Вавилова Т.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины  
им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр  
им. В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

### Контактная информация:

Геннадий Георгиевич Родионов  
ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова  
МЧС России  
ул.Академика Лебедева, д.4/2,  
Санкт-Петербург, Россия, 190044  
E-mail: rodgengeor@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 28.12.2017 и  
принята к печати 05.02.2018.

### Резюме

**Цель работы.** Оценить качественный и количественный состав пристеночной микробиоты кишечника здоровых молодых людей проживающих в Санкт-Петербурге, с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии. **Материалы и методы.** В исследование приняло участие 116 здоровых молодых людей (66 мужчин и 50 женщин), постоянно проживающих в Санкт-Петербурге. Возраст обследованных 20–35 лет. Было проведено определение количественного состава пристеночной микробиоты кишечника исследованием образцов крови методом газовой хроматографии масс-спектрометрии. **Результаты и выводы.** Метод ГХ-МС позволяет детектировать в исследуемых образцах маркеры, компоненты клеток широкого спектра микроорганизмов нормальной и патогенной микробиоты человека, выявлять и количественно определять состав микробного сообщества. Определена количественная характеристика как для отдельных групп микроорганизмов, так и для объединенных показателей: аэробов, анаэробов, полезной, условно-патогенной микрофлорой и их соотношениями у здоровых молодых людей, проживающих в Санкт-Петербурге.

**Ключевые слова:** микробиота, жирные кислоты, микрoэкологический статус, масс-спектрометрия, микробные маркеры.

Для цитирования: Трансляционная медицина. 2017; 4 (6): 34–42 .

## EVALUATION OF THE WALL INTESTINAL MICROBIOTA OF HEALTHY PEOPLE BY GAS CHROMATOGRAPHY — MASS SPECTROMETRY METHOD

Rodionov G.G.<sup>1</sup>, Shantyr I.I.<sup>1</sup>, Svetkina E.V.<sup>1</sup>, Sar'yan E.S.<sup>1</sup>, Vavilova T.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> «The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine» The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, Saint Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Gennadii G. Rodionov  
The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine  
Akademika Lebedeva str., 4/2,  
Saint Petersburg, Russia, 190044  
E-mail: rodgengeor@yandex.ru

Received 28 December 2017;

accepted 05 February 2018.

### Abstract

**Objective.** To evaluate qualitative and quantitative composition of the wall intestinal microbiota of healthy young people living in Saint-Petersburg with gas chromatography — mass spectrometry method. **Design and Methods.** The study involved 116 healthy young people (66 men and 50 women), constantly living in Saint-Petersburg. The age of the examined were 20-35 years old. Quantitative composition of the wall intestinal microbiota was performed by analysis of blood with gas chromatography — mass spectrometry. **Results and conclusions.** The GC-MS method allows to detect markers, components of the cells a wide range of microorganisms in study samples of normally and pathogenic human microbiota, reveal and quantitative determinate composition of the microbial community. It was determinate quantitative characteristic both for several groups of microorganisms and combined indicators: aerobes, anaerobes, healthy, opportunistic microflora, and their ratio in healthy young people living in Saint Petersburg.

**Key words:** microbiota, fatty acids, microecological status, mass spectrometry, microbial markers.

*For citation: Translyatsionnaya meditsina = Translational Medicine. 2017; 4 (6): 34–42.*

### Введение

В последние годы отмечается возросший интерес исследователей к изучению микробов, постоянно живущих в организме человека и обозначаемых в совокупности термином “микробиота”. Микробиота по своему составу весьма разнообразна, и в кишечнике, например, обитают представители примерно 70 классов бактерий [1].

Установлено, что в просвете желудочно-кишечного тракта у здорового человека обитает более  $10^{14}$  бактериальных клеток, что на порядок превосходит общее число клеток человеческого организма [2].

Микробиота кишечника выполняет ряд важных функций у человека. Наиболее хорошо установленной функцией является ее роль в метаболизме неперевариваемых диетических компонентов. Так, анаэробы внутри кишечника ферментируют эндогенные и экзогенные субстраты, продуцируя

короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), такие как ацетат, пропионат, бутират и лактат, которые обеспечивают не только около половины энергетических потребностей колоноцитов, но и являются дополнительным источником энергии для хозяина [3].

Микробиота толстой кишки, в свою очередь, задействована в синтезе витаминов (биотин, фолат), а также влияет на моторику кишечника, кишечного-печеночный круговорот жирных кислот и метаболизм холестерина [4], модулирует иммунную систему, изменяя тем самым ответную реакцию хозяина к воспалению и инфекционным агентам [5].

Применяемые на сегодняшний день в клинической практике методы определения микробиологического статуса, а также диагностики инфекций имеют определенные ограничения и недостатки. Например, существенным недостатком классического бактериологического исследования, помимо

дороговизны и длительности (7-10 дней), является невозможность оценить роль некультивируемых микроорганизмов в инфекционно-воспалительном процессе, прежде всего — анаэробов. Используемый в качестве дополнительного к классическому иммуносерологический метод является непрямым, поскольку выявляет не возбудителя, а иммунный ответ на него, который может иметь индивидуальные вариации. Известные молекулярно-биологические методы, при несомненных преимуществах — прямое определение возбудителя, высокие специфичность и чувствительность, универсальность, скорость, возможность диагностики хронических и латентных инфекций — имеют такие серьезные недостатки, как частые ложно-положительные результаты и невозможность адекватной количественной оценки [6, 7, 8].

Из всего вышесказанного вытекает востребованность в надежном количественном экспресс-методе диагностики дисбактериозов и определения возбудителей инфекции.

По нашему мнению, таким методом может стать хемодифференциация микроорганизмов с помощью метода газовой хроматографии, совмещенный с масс-спектрометрией (ГХ-МС), основанная на количественном определении маркерных веществ микроорганизмов (жирных кислот, альдегидов, спиртов и стероидов). Предлагаемая технология позволяет не только проводить мониторинг этих соединений в образцах, но также и рассчитывать численность микроорганизмов того или иного таксона в образце. В этом принципиальное отличие метода, придающее ему качественно новое свойство — возможность разложения суперпозиции всего пула микробных маркеров, что позволяет оценить вклад каждого из сотен видов микроорганизмов, присутствующих, например, в фекалиях [9, 10].

В 2010 году метод ГХ-МС разрешен Росздравнадзором к применению в качестве новой медицинской технологии «Оценки микробиологического статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии» (Разрешение ФС 2010/038 от 24.02.2010) [11].

Обнаруженный в результате систематических исследований гомеостаз микробных маркеров в крови [12] и адекватность его профиля составу кишечной микрофлоры здорового человека обеспечил уникальную возможность мониторить состояние микробиоты кишечника экспрессным методом — по анализу крови [13].

### Цель исследования

Оценить качественный и количественный состав пристеночной микробиоты кишечника здоровых молодых людей, проживающих в Санкт-Петербурге, с помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии.

### Материалы и методы

В исследование отобраны 116 здоровых молодых людей (66 мужчин и 50 женщин), постоянно проживающих в Санкт-Петербурге. Возраст обследованных 20-35 лет. Критерием их включения в данное исследование являлись отсутствие жалоб на состояние здоровья, в том числе со стороны желудочно-кишечного тракта, отсутствие отклонений от референсных интервалов лабораторных показателей в соответствии с методическими указаниями [14].

Определение количественного состава пристеночной микробиоты кишечника осуществляли на газовом хроматографе «Agilent 7890» с масс-селективным и пламенно-ионизационным детекторами («Agilent Technologies», США), представленном на рис. 1. Масс-спектрометр квадрупольный с диапазоном

**Рис. 1. Газовый хроматограф «Agilent 7890» с масс-селективным и пламенно-ионизационным детекторами («Agilent Technologies», США)**



масс 2-1000 аем, имеет разрешающую способность 0,5 аем во всем рабочем диапазоне. Чувствительность прибора 50 пг по метил-стеарату в режиме непрерывного сканирования и 1 пг в режиме селективных ионов. Для анализа использовали кварцевую капиллярную колонку с неподвижной фазой HP-5 ms.

Метод ГХ-МС позволяет получить уникальную информацию о составе особых мономерных химических компонентов микробной клетки, поступающих в плазму крови, характерных для тех или иных таксонов [15, 10]. Эти компоненты (маркеры) могут быть выделены из других химических составляющих суммарной биомассы биологических объектов и использованы для детектирования микроорганизмов соответствующего рода или вида [16, 17, 18].

Суть анализа состоит в прямом извлечении с помощью химической процедуры высших жирных кислот из подлежащего исследованию образца, их разделения на хроматографе в капиллярной колонке высокого разрешения и анализа состава в динамическом режиме на масс-спектрометре. Поскольку хроматограф соединен в едином приборе с масс-спектрометром и снабжен компьютером с соответствующими программами автоматического анализа и обработки данных, сам процесс анализа занимает 30 мин, а с учетом времени пробоподготовки и расчета данных — не более 3 часов. Его результатом является количественное определение состава микроорганизмов, присутствующих в биологических жидкостях и тканях.

К настоящему времени состав жирных кислот большинства клинически значимых микроорганизмов хорошо изучен, показана его воспроизводимость, оценена родо- и видоспецифичность.

Отобранную у обследованных кровь в объеме 40 мкл высушивали с добавлением равного по объему количества метанола и подвергали кислоте метанолизу в 1М HCl в метаноле. Метанолиз проводили в 0,4 мл реактива на 10–15 мг сухого остатка в течение 1 часа при 80° для проведения анализа смесь эфиров в количестве 2 мкл вводили в инжектор ГХ-МС системы «Agilent 7890» посредством автоматической системы ввода проб (автосэмплер), которая обеспечивает воспроизводимость времен удерживания хроматографических пиков и повышает точность автоматической обработки данных.

Хроматографическое разделение пробы осуществляли на капиллярной колонке с метилсиликоновой привитой фазой HP-5ms длиной 25 м и внутренним диаметром 0,25 мм, газ-носитель — гелий. Режим анализа — программированный, скорость нагрева термостата колонки 7 °С/мин в диапазоне 135–320°С. Выдержка при начальной температуре 1,5 мин. Температура испарителя —

250 °С, интерфейса — 250–300 °С. Интервалы и ионы выбирали таким образом, чтобы селективно детектировать маркеры определяемых видов микроорганизмов [11].

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью пакета статистических программ Статистика 6,0 в том числе описательная статистика, вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена. На основании принципов, изложенных в публикации [19], рассчитаны объединенные статистические показатели пристеночной микробиоты кишечника (общее количество клеток, полезная микрофлора (ПолФ), условно патогенная микрофлора (УПатФ), анаэробы и аэробы и их соотношения).

### Результаты и их обсуждение

Методом хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров крови оценено количественное содержание микроорганизмов в пристеночном мукозном слое кишечника здоровых молодых людей, проживающих в Санкт-Петербурге (табл. 1). При проведении описательной статистики выявлены существенные отклонения показателей микроорганизмов от нормальности, в связи с чем в работе в качестве средних величин использованы показатели медианы.

Обращает на себя внимание тот факт, что у здоровых людей 16 видов микроорганизмов не выявлено и 7 видов, у которых обнаружены клетки только в 95-и перцентильном интервале.

При анализе гендерных особенностей пристеночной микробиоты кишечника статистически значимых различий не установлено.

Объединенные показатели микробиоты мукозного слоя кишечника молодых здоровых людей, проживающих в Санкт-Петербурге (116 чел.), представлены в табл. 2.

Из представленных данных следует, что в мукозном слое кишечника здоровых молодых людей резидентная полезная микрофлора примерно в 1,5 раза превышает условно патогенную, а количество бактерий-анаэробов существенно превалирует по отношению к аэробам.

Структура полезной микрофлоры отражена на рис. 2.

Как следует из представленных данных, в структуре полезной микрофлоры минимальную долю составляют *Propionibacterium/Cf. Subterminale*. Остальные группы микроорганизмов представлены в относительно равных пропорциях.

Структура основных видов условно-патогенной пристеночной микрофлоры кишечника здоровых людей представлена на рис. 3.

В структуре пристеночной условно-патогенной микрофлоры кишечника здоровых лиц

**Таблица 1. Статистические показатели пристеночной микробиоты кишечника у здоровых людей**

№ п/п	Группы и таксоны микроорганизмов	Численность, кл./г $\times 10^5$		
		медиана	50 % интервал	5–95 перцентильный интервал
Гр (+) кокки аэробные или факультативные				
1	Streptococcus (оральные)	3650	3030–4670	1960–6600
2	Staphylococcus intermedius	750	230–1500	0–2300
3	Staphylococcus	0	0	0–300
4	Enterococcus	0	0	0
5	Streptococcus mutans	1230	950–1530	600–1900
Анаэробы				
1	Eubacterium	0	0	0–39
2	Eubacterium lentum (группа А)	390	217	22–730
3	Eubacterium moniliforme sbsp	0	0	0
4	Eubacterium/Cl. Coccoides	8500	6800–11500	3000–17600
5	Clostridium hystolyticum	580	270–870	0–1500
6	Clostridium propionicum	0	0	0
7	Clostridium ramosum	5700	3900–7700	2080–9800
8	Clostridium perfringens	0	0	0–30
9	Cl.difficile	0	0	0
10	Bacteroides hypermegas	54	33–73	0–93
11	Bacteroides fragilis	0	0	0
12	Propionibacterium	47	12–90	0–100
13	Propionibacterium/Cl. subterm.	2800	2000–3800	710–5010
14	Propionibacterium jensenii	54	18–95	0–300
15	Propionibacterium acnes	122	50–170	0–350
16	Peptostreptococcus anaerobius 1, 2	295	150–400	0–500
17	Prevotella	0	0	0–12
18	Fusobacterium/Haemophylus	0	0	0
19	Lactobacillus	10750	7100–12900	3500–16250
20	Bifidobacterium	8085	5040–13850	2800–18500
21	Актиномицеты	43	32–58	19–75
22	Actinomycetes 10Me14	0	0	0
23	Actinomyces viscosus	1000	589–1300	180–1600
24	Ruminicoccus	780	390–960	90–1600

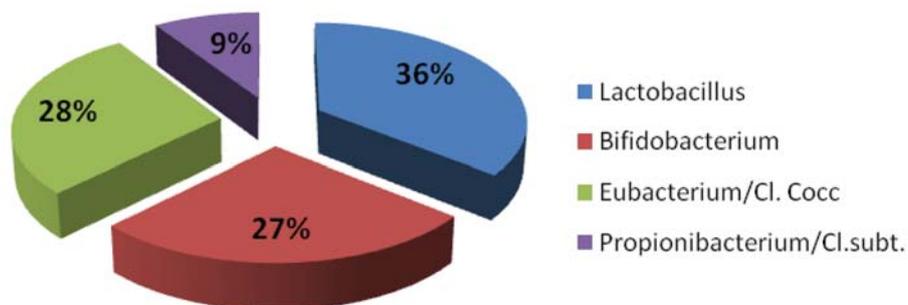
Продолжение табл. 1

№ п/п	Группы и таксоны микроорганизмов	Численность, кл./г x10 <sup>5</sup>		
		медиана	50 % интервал	5–95 перцентильный интервал
25	<i>Butyrivibrio/Cl/fimetarum</i>	43	0–93	0–354
26	<i>Blautia coccoides</i>	76	34–280	1–550
27	<i>Porphyromonas</i>	0	0	0
Гр (+) палочки аэробные или факультативные				
1	<i>Bacillus cereus</i>	156	0–300	0–500
2	<i>Nocardia</i> , 14:1d11	4170	3400–5230	2500–6200
3	<i>Nocardia asteroides</i>	1066	760–1300	540–1600
4	<i>Actinomadura</i>	0	0	0
5	<i>Rhodococcus</i>	51	33–85	20–130
6	Corineform CDC-group XX	480	270–680	65–920
7	<i>Bacillus megaterium</i>	33	0–70	0–100
Гр (-) палочки аэробные или факультативные				
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0–27
2	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	0	0
3	<i>Moraxella/Acinetobacter</i>	0	0	0
4	<i>Alcaligenes</i>	0	0	0
5	<i>Flavobacterium</i>	0	0	0
6	<i>Achromobacter</i>	0	0	0
7	<i>Helicobacter pylori</i> , h18	0	0	0–26
8	сем. <i>Enterobacteriaceae</i> ( <i>E.coli</i> и пр)	41	26–57	5–74
9	<i>Campylobacter mucosalis</i>	0	0	0
Грибы, вирусы и прочие				
1	Микр грибы, кампестерол	0	0	0–128
2	Микр грибы, ситостерол	138	55–184	0–360
3	<i>Mycobacterium/Candida</i>	250	177–326	100–400
4	<i>Streptomyces</i>	167	44–183	0–290
5	Herpes	7430	5210–9420	3700–15450
6	Цитомегаловирус	2200	1300–4900	760–10500
7	<i>Pseudonocardia</i>	100	68–126	28–160
	Общее количество клеток	61000	55200–70700	46200–98000
	Плазмодоген (по 16a)	57	42–77	23–104
	Эндотоксин (сумма)	0,63	0,46–1,30	0,30–2,06

Таблица 2. Объединенные статистические показатели пристеночной микробиоты кишечника здоровых лиц

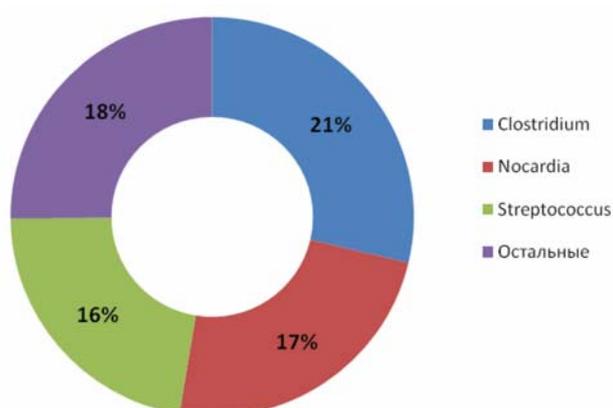
Объединенные показатели пристеночных микроорганизмов кишечника	Численность, кл./г $\times 10^5$		
	медиана	50 % интервал	5–95 перцентильный интервал
Полезная микрофлора	30100	25800–36800	18800–49000
Условно-патогенная микрофлора	20800	19900–24500	15200–29000
ПолФ / УПатФ	1,45	1,15–1,70	0,90–2,30
Анаэробы	39300	33100–46200	30600–55600
Аэробы	11600	9400–16100	5500–24700
Анаэробы / Аэробы	3,40	3,02–3,68	2,90–4,00
Общая сумма	61000	55200–70700	46200–98000

Рис. 2. Структура полезной пристеночной микрофлоры кишечника здоровых людей



основную долю занимают три вида микроорганизмов примерно в равных соотношениях: Clostridium, Nocardia, Streptococcus. Остальные 18 % составляют десять представителей других видов микробов. Прежде всего это Staphylococcus, Ruminococcus, Eubacterium.

Рис. 3. Структура основных видов условно-патогенной пристеночной микрофлоры кишечника здоровых лиц



Основную долю микроорганизмов — анаэробов пристеночной микробиоты кишечника здоровых составляют Lactobacillus, Bifidobacterium и Eubacterium (рис. 4).

Для оценки связи количественных показателей между отдельными группами микроорганизмов

Рис. 4. Структура основных видов микроорганизмов — анаэробов пристеночной микробиоты кишечника здоровых лиц

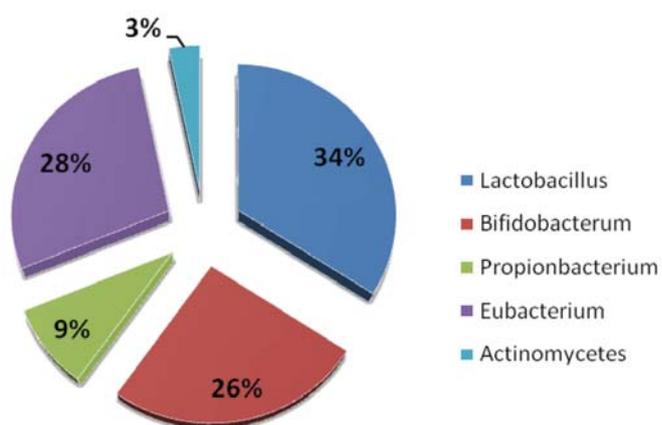


Таблица 3. Основные значимые ранговые корреляции Спирмана между представителями пристеночной микробиоты кишечника здоровых лиц.

Показатели микробиоты	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Bacillus cereus</i>	Микр.грибы, ситостерол	<i>Lactobacillus</i>
<i>Nocardia asteroides</i>	0,254	0,263			0,293
Цитомегаловирус	0,367	0,261	- 0,226		0,211
Микр грибы, ситостерол	0,457	0,294	- 0,309		
<i>Propionibacterium acnes</i>	0,256				0,220
<i>Ruminococcus</i>	0,554	0,404	- 0,343	0,417	0,473
<i>Blautia coccoides</i>	0,662	0,199	-0,276	0,311	0,312
<i>Butyrivibrio/Cl. fimetarium</i>	0,547	0,217	-0,324	0,241	0,312
<i>Actinomyces viscosus</i>	0,413	0,375	-0,235	0,446	0,358
<i>Propionibacterium jensenii</i>	0,282				

вычисляли коэффициент корреляции Спирмана и проверку его значимости. Наиболее множественные значимые корреляции представлены в табл. 3.

Из представленных данных следует, что род *Clostridium perfringens* имеет наиболее частые и выраженные положительные корреляционные связи со многими условно-патогенными группами микроорганизмов. Несколько меньшие связи установлены для *Peptostreptococcus anaerobius* и несколько неожиданно и тоже с положительной корреляцией — *Lactobacillus*. В то же время выявлена устойчивая отрицательная взаимосвязь *Bacillus cereus* с рядом представителей условно-патогенной микрофлоры (табл. 3).

#### Заключение

На основании проведенных исследований и анализа полученных результатов можно констатировать следующее:

Метод ГХ-МС позволяет детектировать в исследуемых образцах маркеры, компоненты клеток широкого спектра микроорганизмов нормальной и патогенной микробиоты человека, выявлять и количественно определять состав микробного сообщества;

Определена количественная характеристика (медиана, 50 и 95 % доверительные интервалы) как

для отдельных групп микроорганизмов, так и для объединенных показателей: аэробов, анаэробов, полезной, условно-патогенной микрофлорой и их соотношениями у здоровых молодых людей, проживающих в Санкт-Петербурге.

#### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

#### Список литературы / References

1. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005; 308: 1635–1638.
2. Romancova TI. Obesity epidemic: obvious and probable causes. *Obesity and metabolism = Ozhirenie i metabolism*. 2011; 1: 5–19. In Russian [Романцова Т.И. Эпидемия ожирения: очевидные и вероятные причины. *Ожирение и метаболизм*. 2011; 1: 5–19].
3. Gill SR, Pop M, Deboy R. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006; 312: 1355–1359.
4. Steer T, Carpenter H, Tuohy K. Perspectives on the role of human gut microbiota and its modulation by pro — and prebiotics. *Nutr. Res. Rev.* 2000; 13: 229–254.
5. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006; 7: 688–693.
6. Mikhailova DO, Bobyleva ZD, Bazarnii VV, et al. Diagnostic value of various immunological methods

of laboratory diagnostics of legionellosis. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. In Russian [Михайлова Д.О., Бобылева З.Д., Базарный В.В. и др. Диагностическое значение различных иммунологических методов лабораторной диагностики легионеллеза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2008. 2: 51–53].

7. Fenollar F, Roux V, Stein A, et al. Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44 (3): 1018–1028.

8. Persing DH. Polymerase chain reaction: trenches to benches. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29 (7): 1281–1285.

9. Luckey TD. Overview of gastrointestinal microecology. *Nahrung*. 1987; 31 (5–6): 359–364.

10. Suau A, Bonnet R, Sutren M, et al. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65(11): 4799–4807.

11. Osipov GA The method for determining the generic (species) composition of the association of microorganisms. Patent on the application #93057595/13, 24.12.1993. In Russian [Осипов Г.А. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов. Патент по заявке № 93057595/13 от 24.12.1993 г].

12. Beloborodova NV, Osipov GA. Homeostasis of small molecules of microbial origin and its role in the relationship of microorganisms with the host organism. *Annals of the Russian academy of medical sciences = Vestnik RAMN*. 1999; 7: 25–31. In Russian [Белобородова Н.В., Осипов Г.А. Гомеостаз малых молекул микробного происхождения и его роль во взаимоотношениях микроорганизмов с организмом хозяина. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 1999; 7: 25–31].

13. Osipov GA, Parfenov AI, Verhovceva NV, et al. Clinical significance of the study of microorganisms of the intestinal mucosa by culture-biochemical and chromatography-mass-spectrometric methods. *Exp. Clin. Gastroenterology*. 2003; 4: 59–67. In Russian [Осипов Г.А., Парфенов А.И., Верховцева Н.В. и др. Клиническое значение исследования микроорганизмов слизистой оболочки кишечника культурально-биохимическим и хромато-масс-спектрометрическим методами. *Эксп. Клин. Гастроэнтерология*. 2003; 4: 59–67].

14. Assessment of bioequivalence of medicinal products. Moscow. Guidelines, 2008. p. 32. In Russian [Оценка биоэквивалентности лекарственных средств. М. Методические указания, 2008. с. 32].

15. Weyant R, Moss U, Hollis D6 et al. The determinant of non-trivial pathogenic Gram-negative bacteria. Moscow.: Mir, 1999: 612–783. In Russian [Вейант Р., Мосс У., Холлис Д. и др. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий. М.: Мир, 1999. с. 612–783].

16. Turova ES, Osipov GA. Study of the structure of a microbial community active in biotransformation of iron minerals in kaolin. *Microbiology*. 1996; 65 (5): 682–689. In Russian [Турова Е.С., Осипов Г.А. Изучение структуры микробного сообщества, активного в биотрансформации минералов железа в каолине. *Микробиология*. 1996; 65 (5): 682–689].

17. Osipov GA, Turova ES. Studying species composition of microbial communities with the use of gas chromatography-mass spectrometry. *Microbial community of kaolin. FEMS Microbiol. Rev.* 1997; 20 (3-4): 437–446.

18. White D.C. Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic activity. *Adv. Limnol.* 1988; 31: 1–18.

19. Osipov GA. Chromato-mass spectrometric analysis of microorganisms and their communities in clinical samples in infections and dysbiosis. In: *Chemical analysis in medical diagnostic*. Moscow: Nauka, 2010: 293–368. In Russian [Осипов Г.А. Хромато-масс-спектрометрический анализ микроорганизмов и их сообществ в клинических пробах при инфекциях и дисбиозах. В кн: *Химический анализ в медицинской диагностике*. М.: Наука, 2010: 293–368].

### Информация об авторах:

Родионов Геннадий Георгиевич, д.м.н., доцент заведующий научно-исследовательской лабораторией токсикологии и лекарственного мониторинга Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России;

Шантырь Игорь Игнатьевич, д.м.н., профессор, заведующий научно-исследовательским отделом биоиндикации Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС;

Светкина Екатерина Владимировна, научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории токсикологии и лекарственного мониторинга Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России;

Сарьян Элина Сергеевна, ординатор научно-исследовательской лаборатории токсикологии и лекарственного мониторинга Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России;

Вавилова Татьяна Владимировна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В.А. Алмазова МЗ России;

### Author information:

Gennadii G. Rodionov, Dr. Med. Sci., associate professor, head of research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia;

Igor I. Shantyr, Dr. Med. Sci., professor, head of Bioindication division, The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia;

Ekaterina V. Svetkina, research associated of research laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia;

Elina S. Sar'yan, resident doctor of research laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia;

Tatiana V. Vavilova, Dr. Med. Sci., professor, head of Laboratory Medicine and Genetics Educational Department, Almazov National Medical Research Centre.