

МИКРОБИОЛОГИЯ



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

<https://elibrary.ru/mzyurq>

Семёнова Н.В., Гаращенко Н.Е., Смурова Н.Е., Белькова Н.Л., Немченко У.М.,
Клименко Е.С., Зугеева Р.Е., Колесников С.И., Мадаева И.М., Колесникова Л.И.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМИ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ НА ПРИМЕРЕ НАРУШЕНИЙ СНА У ЖЕНЩИН В МЕНОПАУЗЕ

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 664003, г. Иркутск, Россия

В настоящее время активно изучается роль кишечного микробиома во многих физиологических и патологических процессах. Важным представляется исследование состояния кишечной микробиоты не только как показателя для дополнительной диагностики и терапии различных заболеваний, но и профилактики метаболических нарушений.

Цель - определение эффективного способа оценки состояния микробиоты кишечника и значимых бактериальных маркеров на примере нарушений сна у женщин в менопаузе.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 96 женщин с менопаузальным статусом. Критериями исключения женщин из исследования явились: прием антибактериальных препаратов в течение трех последних месяцев, обострение хронических заболеваний, сахарный диабет, наличие инфекционных заболеваний. Качество сна оценивалось по двум анкетам: Питтсбургский индекс качества сна (PSQI) и шкала сонливости Эпворта. Оценку видового и количественного состава микробиоты проводили микробиологическими и молекулярно-генетическими методами. Различия считались достоверными при значениях p -value меньше 0,05.

Результаты и обсуждение. На основании полученных результатов у 8,3% пациентов установлен зубиоз, у 86,5% определена первая степень дисбиоза, у 5,2% - вторая степень дисбиоза. Результаты микробиологического анализа не дали межгрупповых статистически значимых результатов, однако, по данным молекулярно-генетического анализа в группе с нарушениями сна (согласно PSQI) выявлено повышенное содержание *Enterococcus* spp. ($p=0,03$), *Clostridium perfringens* ($p=0,01$), *Shigella* spp. ($p=0,04$). Согласно шкале Эпворта отмечено более высокое содержание *Bifidobacterium* spp. ($p=0,04$), *Prevotella* spp. ($p=0,02$), *Eubacterium rectale* ($p=0,04$) в группе с избыточной дневной сонливостью по сравнению с контролем.

Заключение. Использование ПЦР тест-системы позволило получить более полные результаты по оценке состояния микробиоты кишечника в сравнении с бактериологическим анализом. Применение двух различных опросников для выявления нарушений сна показало, что состав и структура микробиоты кишечника взаимосвязаны с сомнологической патологией у женщин в менопаузе.

Ключевые слова: микробиота кишечника; нарушения сна; менопауза

Для цитирования: Семёнова Н.В., Гаращенко Н.Е., Смурова Н.Е., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Клименко Е.С., Зугеева Р.Е., Колесников С.И., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Сравнительная оценка состояния микробиоты кишечника микробиологическими и молекулярно-генетическими методами на примере нарушений сна. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70(9): 614-622.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-9-614-622>

EDN: MZYURQ

Для корреспонденции: Семенова Наталья Викторовна, д-р биол. наук, гл. науч. сотр. лаборатории патофизиологии; e-mail: natkor_84@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 27.05.2025

Принята к печати 17.07.2025

Опубликовано 25.08.2025

Semenova N.V., Garashchenko N. E., Smurova N.E., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Klimenko E.S.,
Zugeeva R.E., Kolesnikov S.I., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE GUT MICROBIOME BY MICROBIOLOGICAL AND MOLECULAR-GENETIC METHODS IN SLEEP DISORDERS

FSBSI «Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems», 664003 Irkutsk, Russia

Currently, the role of the gut microbiome in many physiological and pathological processes is being actively investigated. It is important to study the state of the gut microbiome not only as an indicator for additional diagnosis and therapy of various diseases, but also for the prevention of metabolic disorders.

The aim: to determine an effective method for assessing the state of the gut microbiome and its significant bacterial markers in menopausal women with sleep disorders.

Material and methods. The study involved 96 women in menopause. The criteria for excluding women from the study were taking antibacterial drugs in the last three months, exacerbation of chronic diseases and diabetes mellitus, and the presence of infectious diseases. Sleep quality was assessed using two questionnaires: the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) and the Epworth Sleepiness Scale. The qualitative and quantitative composition of the microbiome was assessed using microbiological and molecular genetic

methods. Differences were considered significant at p -values less than 0.05.

Results and discussion. Based on the results obtained, 8.3% of patients were diagnosed with eubiosis, 86.5% were diagnosed with the first degree of dysbiosis, and 5.2% were diagnosed with the second degree of dysbiosis. The results of the microbiological analysis did not give intergroup statistically significant results, however, according to the molecular genetic analysis, an increased content of *Enterococcus* spp. ($p=0.03$), *Clostridium perfringens* ($p=0.01$) and *Shigella* spp. ($p=0.04$) was revealed in the group with sleep disorders (according to PSQI). According to the Epworth scale, a higher content of *Bifidobacterium* spp. ($p=0.04$), *Prevotella* spp. ($p=0.02$) and *Eubacterium rectale* ($p=0.04$) was noticed in the group with excessive daytime sleepiness compared to the control.

Conclusion. The PCR test system allowed to obtain more complete results for assessing the state of the gut microbiome in comparison with bacteriological analysis. The use of two different questionnaires to identify sleep disorders showed that the composition and structure of the gut microbiome are interrelated with sleep disorders in menopausal women.

Key words: gut microbiome; sleep disorders; menopause

For citation: Semenova N.V., Garashchenko N.E., Smurova N.E., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Klimenko E.S., Zugeeva R.E., Kolesnikov S.I., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Comparative assessment of the gut microbiome by microbiological and molecular-genetic methods in sleep disorders. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2025; 70 (9): 614-622 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-9-614-622>

EDN: MZYURQ

For correspondence: Semenova Natalya V., PhD, research scientist, laboratory of pathophysiology; e-mail: natkor_84@mail.ru

Information about authors:

Semenova N.V.,	https://orcid.org/0000-0002-6512-1335 ;
Garashchenko N.E.,	https://orcid.org/0000-0002-4396-2096 ;
Smurova N.E.,	https://orcid.org/0009-0004-3614-6631 ;
Belkova N.L.,	https://orcid.org/0000-0001-9720-068X ;
Nemchenko U.M.,	https://orcid.org/0000-0002-7656-342X ;
Klimenko E.S.,	https://orcid.org/0000-0003-0979-8816 ;
Zugeeva R.E.,	https://orcid.org/0009-0000-8522-7359 ;
Kolesnikov S.I.,	https://orcid.org/0000-0003-2124-6328 ;
Madaeva I.M.,	https://orcid.org/0000-0003-3423-7260 ;
Kolesnikova L.I.,	https://orcid.org/0000-0003-3354-2992 .

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

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

Received 27.05.2025

Accepted 17.07.2025

Published 25.08.2025

Введение. Микробиота кишечника выполняет ряд жизненно важных функций в организме человека, основными из которых являются пищеварительная, секреторная, защитная функции [1]. Учитывая особенности состава и функционирования, микробиоту кишечника выделяют как «экстракорпоральный орган», являющийся неотъемлемой частью организма человека. Существует множество концепций, в рамках которых рассматриваются сложные взаимодействия систем органов с микробиотой кишечника посредством ее метаболической активности [2, 3]. Под влиянием различных факторов, таких как стресс, несбалансированное питание, прием антибиотиков, хронические и острые инфекции, структура кишечного микробиома изменяется с повышением доли условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). Такое дисбиотическое состояние микробиоты может определять или усугублять различные патологические состояния [4].

Доказано существование двусторонней регуляции сна и состава микробиоты кишечника через метаболические, иммунные и нейронные пути, согласно концепции ось «микробиота-кишечник-мозг» [5]. Некоторыми исследованиями установлены изменения в составе кишечного микробиоценоза при нарушениях сна [6-10]. При этом восстановление нормы и устранение дисбиотических нарушений микробиоты кишечника оказывает терапевтический эффект при расстройствах сна [5]. Микробиота кишечника может оказывать влияние на со-

стояние организма, в том числе посредством изменения окислительно-восстановительного баланса, модуляции синтеза ферментов с про- и антиоксидантной активностью [11-14]. Важным представляется исследование состояния кишечной микробиоты не только как показателя для дополнительной диагностики и терапии расстройств сна, но для профилактики и коррекции окислительного стресса, развитие которого отмечается при инсомнических расстройствах [15]. Данные сомнологические нарушения чаще выявляются у женщин и их встречаемость повышается при угасании репродуктивной функции [16].

Классическим методом определения состояния микробиоты кишечника является бактериологический анализ на дисбиоз [17], основанный на культивировании основных представителей нормо- и патобиоты кишечника. Данный метод имеет ограничение, поскольку более чем 70% микроорганизмов кишечника являются некультивируемыми [18]. В последнее время появляются тест-системы, основанные на использовании молекулярно-генетического подхода к анализу состава и структуры микробиоты кишечника. Мультиплексная ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) позволяет увеличить разнообразие определяемых микроорганизмов и провести их количественную оценку в составе кишечной микробиоты.

Цель исследования: определение эффективного способа оценки состояния микробиоты кишечника и значимых бактериальных маркеров на примере нарушений сна у женщин в менопаузе.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 96 женщин в возрасте от 45 до 69 лет. Критерии включения: аменорея или нарушения менструального цикла (стабильные колебания от 7 дней и выше по продолжительности последовательных циклов), уровень антимюллерова гормона не превышает 1,2 нг/мл. Критерии исключения: прием антибактериальных препаратов в течение трех последних месяцев, обострение хронических заболеваний, сахарный диабет, наличие инфекционных заболеваний.

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964, ред. 2013 г.) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Выписка из заседания № 3.1.3 от 28. 09. 2022 г.). Письменное информированное согласие получено от всех участников.

Качество сна оценивали двумя способами: по Питтсбургскому индексу качества сна (PSQI) и шкале сонливости Эпворта (Epworth) [19, 20]. На основании результатов опросника PSQI сформированы две группы: контрольная группа (группа 1) с показателем ≤ 5 ($n=35$) и группа с нарушениями сна (группа 2) с показателем >5 ($n=61$). Данные, полученные из анализа шкалы Epworth, позволили разделить выборку на две группы: контрольная группа (группа 0) <11 ($n=79$) и группа с избыточной дневной сонливостью (группа 1) ≥ 11 ($n=17$).

На приеме пациенты получали набор для сбора биоматериала в домашних условиях с разработанной ранее инструкцией. Для микробиологического исследования на дисбиоз кишечника фекальный материал собирали в стерильный пластиковый контейнер. Для молекулярно-генетического анализа фекалии собирали в пробирки с шариками BashingBead (Zymo Research, США).

Бактериологическое исследование на дисбиоз кишечника проводили в соответствии с Отраслевым стандартом «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [21] и рекомендациями [22]. Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили на селективных питательных средах производителей НИЦФ (г. Санкт-Петербург, Россия), ФБУН ГНЦ ПМБ (г. Оболенск, Россия), HiMedia Laboratories (Индия). Биохимическую идентификацию энтеробактерий проводили с помощью тест-системы ENTEROtest 16 (LACHEMA, Чехия). Степень микробиологических нарушений при дисбиозе устанавливали согласно референсным значениям Отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [21] с учетом возраста пациентов.

Для выделения ДНК из биоматериала использован коммерческий набор Stool Genomic DNA Kit (CWБИО, Китай) согласно инструкции производителя. Концентрацию ДНК оценивали на спектрофотометре. Состав микробиоты кишечника определяли методом ПЦР-РВ с флуоресцентной детекцией с применением тест-системы «Колонофлор-16 (премиум)» (АльфаЛаб, Россия) на амплификаторе CFX-96 (BioRad, США). В исследование брали образцы с концентрацией от 1 до 2 нг/мкл.

Статистическая обработка данных. Результаты обработаны в программном обеспечении R v. 4.4.2 и в среде R Studio сборка 2024.12.1+563. Для проверки выборок на нормальность распределения применён

критерий Шапиро-Уилка. Поиск групповых различий проведён с использованием U-критерия Манна-Уитни, теста Вилкоксона с поправкой на множественные сравнения и однофакторного дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса с последующим тестом Данна, теста Фишера с применением стандартного пакета rstatix, пакетов dplyr, skimr, table1, tidyr, ggpubr. Визуализация результатов осуществлена с помощью пакета ggplot2. Различия считались достоверными при значениях p -value меньше 0,05.

Результаты. В бактериологическом исследовании на дисбиоз кишечника определено наличие и проведена количественная оценка 15 групп микроорганизмов, среди которых были представители нормобиоты, и условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) (табл. 1). В группу неферментирующих бактерий включены *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp.

Таблица 1

Показатели кишечного микробиоценоза по результатам бактериологического исследования на дисбиоз в общей выборке женщин (lg КОЕ/г кала)

Показатель	Референсные значения	Среднее \pm SD Me [Q ₁ ; Q ₃] Минимум - максимум
<i>Bifidobacterium</i> spp.	9-10	7,59 ($\pm 1,30$)
		7,00 [6,00; 9,00]
		6,00-9,00
<i>Lactobacillus</i> spp.	7-8	8,17 ($\pm 1,17$)
		9,00 [7,00; 9,00]
		6,00-9,00
<i>Escherichia coli</i> с нормальной ферментативной активностью	7-8	5,80 ($\pm 2,27$)
		7,00 [5,75; 7,00]
		0,00-8,00
<i>Escherichia coli</i> со слабой ферментативной активностью	5-8	1,39 ($\pm 2,74$)
		0 [0; 0]
		0,00-8,00
<i>Escherichia coli</i> с гемолитической активностью	Менее 5	0,646 ($\pm 2,03$)
		0 [0; 0]
		0,00-8,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	0,0417 ($\pm 0,408$)
		0 [0; 0]
		0,00-4,00
<i>Enterococcus</i> spp.	-	2,42 ($\pm 3,22$)
		0 [0; 6,00]
		0,00-8,00
<i>Klebsiella</i> spp.	Менее 4	1,16 ($\pm 2,30$)
		0 [0; 0]
		0,00-7,00
<i>Enterobacter</i> spp.	Менее 4	0,323 ($\pm 1,40$)
		0 [0; 0]
		0,00-7,00
<i>Citrobacter</i> spp.	Менее 4	0,313 ($\pm 1,36$)
		0 [0; 0]
		0,00-7,00
<i>Clostridium</i> spp.	Менее 5	2,78 ($\pm 2,13$)
		2,00 [2,00; 4,00]
		0,00-9,00
Неферментирующие бактерии	Менее 4	0,177 ($\pm 0,995$)
		0 [0; 0]
		0,00-6,00

Таблица 2

Количественные показатели кишечного микробиоценоза по результатам ПЦР-анализа в общей выборке женщин (lg КОЕ/г кала)

Показатель	Референсные значения	Среднее±SD Me [Q ₁ ; Q ₃] Минимум - максимум
Общая бактериальная масса	11-13	13,0 (±0,486)
		13,0 [12,7; 13,3]
		11,60-13,78
<i>Lactobacillus</i> spp.	7-8	6,73 (±1,87)
		6,87 [6,48; 7,63]
		0,00-10,00
<i>Bifidobacterium</i> spp.	9-10	10,9 (±1,07)
		11,0 [10,3; 11,7]
		7,95-12,95
<i>Escherichia coli</i>	6-8	8,90 (± 1,15)
		8,95 [8,30; 9,72]
		6,48 – 11,70
<i>Bacteroides</i> spp.	9-12	12,7 (±0,590)
		12,7 [12,5; 13,1]
		11,00-13,78
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	8-11	11,9 (±0,558)
		12,0 [11,7; 12,3]
		9,85 – 13,30
<i>Bacteroides thetaomicron</i>	Допустимо любое количе- ство	6,21 (± 4,45)
		8,48 [0; 9,78]
		0,00-11,70
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Не более 11	7,95 (±4,52)
		9,65 [6,79; 11,3]
		0,00-14,78
<i>Enterococcus</i> spp.	Не более 8	2,05 (±3,13)
		0 [0; 5,48]
		0,00-9,00
<i>Escherichia coli</i> enteropathogenic	Не более 4	0,0498 (±0,488)
		0 [0; 0]
		0,00-4,78
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Не более 4	0,782 (±2,21)
		0 [0; 0]
		0,00-8,85
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Не более 4	1,14 (±2,96)
		0 [0; 0]
		0,00-14,95
<i>Candida</i> spp.	Не более 4	0,609 (±2,34)
		0 [0; 0]
		0,00-16,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	Не более 4	1,27 (±3,00)
		0 [0; 0]
		0,00-15,30
<i>Clostridium perfringens</i>	-	1,98 (±3,23)
		0 [0; 5,70]
		0,00-8,95
<i>Proteus vulgaris mirabilis</i>	Не более 4	0,665 (±1,98)
		0 [0; 0]
		0,00-8,00
<i>Citrobacter</i> spp.	Не более 4	0,739 (±2,10)
		0 [0; 0]
		0,00-9,30
<i>Enterobacter</i> spp.	Не более 4	3,70 (±4,13)
		0 [0; 7,40]
		0,00-10,90

Показатель	Референсные значения	Среднее±SD Me [Q ₁ ; Q ₃] Минимум - мак- симум
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	-	1,59 (±2,82)
		0 [0; 1,25]
		0,00-8,30
<i>Parvimonas micra</i>	-	2,93 (±3,70)
		0 [0; 6,48]
		0,00-16,85
<i>Shigella</i> spp.	-	0,780 (±3,12)
		0 [0; 0]
		0,00-16,95
<i>Blautia</i> spp.	8-11	6,21 (±4,35)
		8,39 [0; 9,70]
		0,00-11,85
<i>Acinetobacter</i> spp.	Не более 6	6,21 (±3,00)
		7,30 [6,95; 7,70]
		0,00-12,90
<i>Streptococcus</i> spp.	Не более 8	7,24 (±2,23)
		7,60 [6,60; 8,70]
		0,00-10,30
<i>Eubacterium rectale</i>	8-11	10,2 (±2,71)
		10,9 [10,3; 11,5]
		0,00-12,48
<i>Roseburia inulinivorans</i>	8-10	10,5 (±1,05)
		10,8 [10,0; 11,3]
		7,70-12,00
<i>Prevotella</i> spp.	Не более 11	8,71 (±3,83)
		9,48 [7,48; 11,6]
		0,00-12,78
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	Не более 10	4,42 (±4,50)
		3,30 [0; 8,95]
		0,00-12,00
<i>Methanosphaera stadtmanae</i>	Не более 6	2,51 (±3,84)
		0 [0; 5,93]
		0,00-15,30
<i>Ruminococcus</i> spp.	Не более 11	6,99 (±3,24)
		7,81 [6,48; 9,00]
		0,00-14,70

В целом, в исследуемой выборке пациентов, по результатам бактериологического исследования, такие показатели нормобиоты, как количество *Bifidobacterium* spp. и *Escherichia coli* с нормальной ферментативной активностью снижены, в то время как титр *Lactobacillus* spp. – повышен незначительно. УПМ *Staphylococcus epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Proteus* spp., *Candida* spp. не идентифицированы ни у одного из пациентов.

На основании полученных результатов у 8 (8,3%) пациентов установлен зубиоз, у 83 (86,5%) - определена I степень дисбиоза, преимущественно ввиду снижения количественных показателей нормобиоты (*Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp.), у 5 (5,2%) – II степень дисбиоза установлена по снижению титра нормобиоты совместно с повышением показателей отдельных УПМ. Статистически значимых различий в содержании микроорганизмов между группами, сформированными на основании разных оценок качества сна, не установлено.

По результатам анализа с помощью тест-системы

«Колонофлор-16» проведена количественная оценка 32 показателей микробиоты кишечника.

Значения общей бактериальной массы в кишечном биотопе в общей выборке женщин изменялись от 11,60 до 13,78 со средним значением 13 lg КОЕ/г кала. Показатели облигатной нормобиоты кишечника, такие как *Lactobacillus* spp. *Bifidobacterium* spp. и *Escherichia coli* варьировали от 0 до 10,00, от 7,95 до 12,95 и от 6,48 до 11,70 соответственно. Наибольшие отклонения от референсных значений в сторону увеличения установлены для показателей УПМ: *Klebsiella pneumoniae* на 5 lg КОЕ/г кала, *Klebsiella oxytoca* - 11, *Candida* spp. - 12,

Staphylococcus aureus - 11, *Clostridium perfringens* - 9, *Citrobacter* spp. - 5, *Enterobacter* spp. - 7, *Fusobacterium nucleatum* - 8, *Parvimonas micra* - 17, *Shigella* spp. - 17, *Acinetobacter* spp. - 7, *Methanospaera stadmanae* - 9 у отдельных пациентов. Энтеропатогенная *E. coli*, *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp. не обнаружены ни у одного пациента.

При формировании групп по результатам опросника PSQI выявлено повышенное содержание *Enterococcus* spp. ($p=0,03$), *Clostridium perfringens* ($p=0,01$), *Shigella* spp. ($p=0,04$) в кишечной микробиоте женщин из группы с нарушениями сна (рис. 1).

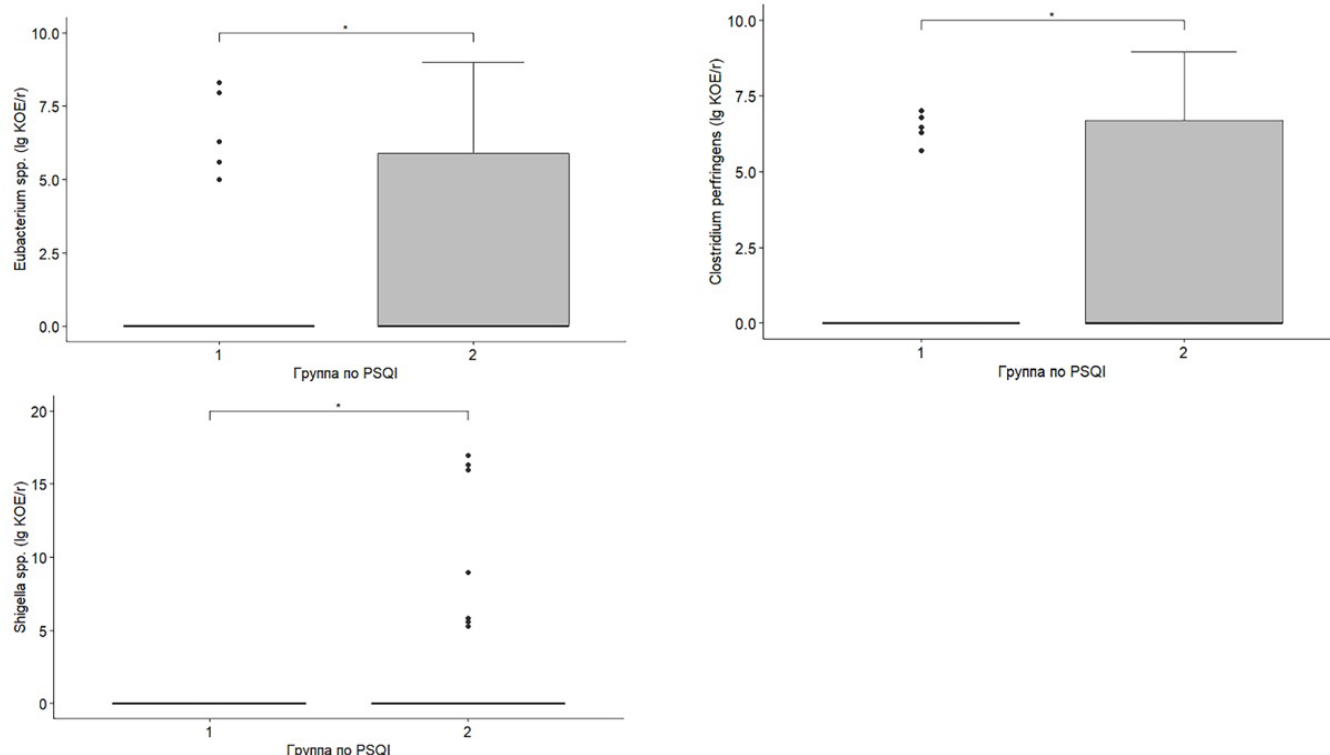


Рис. 1. Содержание микроорганизмов по результатам ПЦР в составе кишечной микробиоты в группах: контроль (1) и нарушения сна (2), сформированных по опроснику PSQI. Отмечены микроорганизмы, имеющие статистически значимые различия между группами: * - p -value $<0,05$.

Проведено сравнение качественных показателей встречаемости *Enterococcus* spp., *Clostridium perfringens*, *Shigella* spp. в составе кишечной микробиоты изучаемых выборок. Результаты показали, что данные группы микроорганизмов статистически чаще встречаются у участников с нарушениями сна ($p < 0,05$) (рис. 2).

При разделении пациентов на группы согласно шкале Эпворта установлено, что в составе кишечной микробиоты в группе с избыточной дневной сонливостью более высокое содержание *Bifidobacterium* spp. ($p=0,04$), *Prevotella* spp. ($p=0,02$), *Eubacterium rectale* ($p=0,04$), чем в контрольной группе (рис. 3).

Обсуждение. Основной причиной различия результатов, полученных с помощью двух методов, использованных в работе, является то, что в ПЦР детектируются фрагменты ДНК всех микроорганизмов определенного вида или таксономической группы вне зависимости от

их физиологического статуса (живые, мертвые, жизнеспособные), а при культуральном исследовании только физиологически активные клетки. При посеве на питательные среды не вырастают клетки, не способные к размножению в конкретный временной момент: метаболически неактивные (персисторы) или мертвые клетки. В среднем продолжительность бактериологического исследования на дисбиоз составляет около семи дней, при этом методе также не учитываются медленно растущие виды микроорганизмов [23]. Высеиваемое разнообразие видов микроорганизмов оказывается значительно меньше их реального в материале.

У четырех пациентов в составе кишечной микробиоты по результатам анализа с помощью тест-системы отмечена высокая концентрация *Shigella* spp. от 9 до 17 lg КОЕ/г кала, тогда как в бактериологическом посеве рост *Shigella* spp. не установлен. В работе Е.А. Кожуховой и соавторов [24] проведена оценка возможности и опреде-

лены проблемы верификации шигеллеза и сальмонеллеза при использовании ПЦР тестов. Авторы отмечают, что при ПЦР детекции бактерий рода *Shigella* установлено низкое значение показателя «прогностическая ценность положительного результата». Бактерии родов *Shigella*

и *Escherichia* имеют протяженные участки в геномах с высокой степенью гомологии, что затрудняет их молекулярно-генетическую дифференцировку. Их считают генетически близкими с разной степенью контагиозности и клинических проявлений [25].

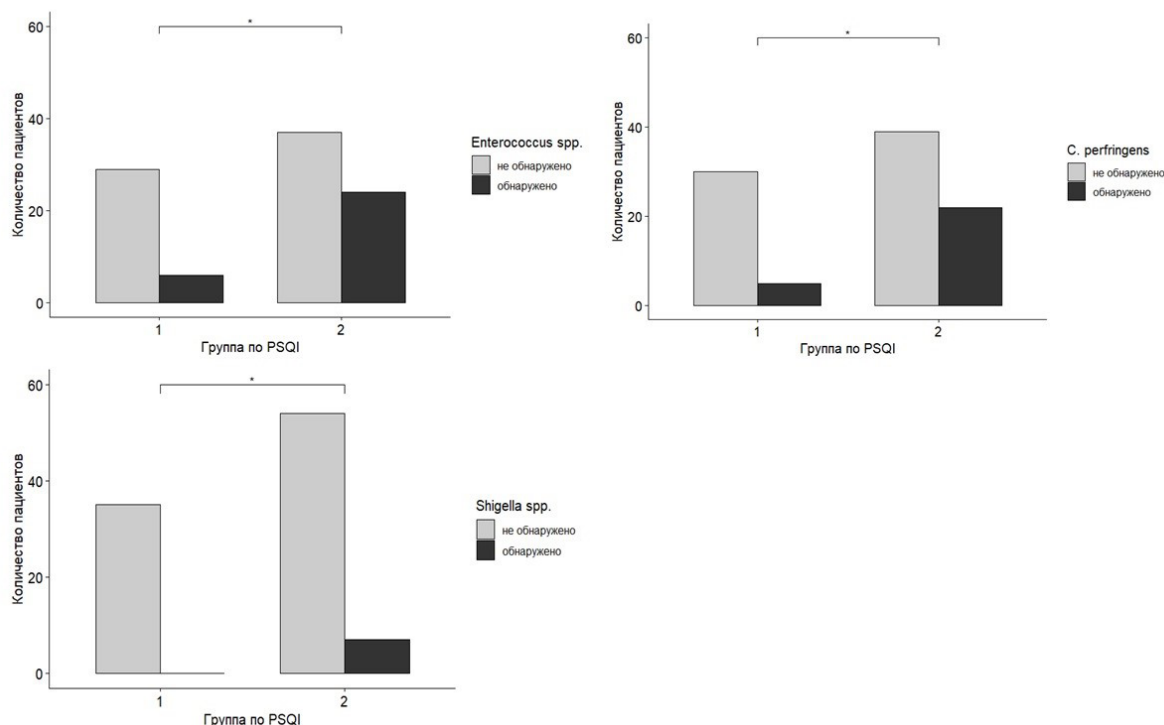


Рис. 2. Встречаемость микроорганизмов по результатам ПЦР в составе кишечной микробиоты в группах: контроль (1) и нарушения сна (2), сформированных по опроснику PSQI. Отмечены микроорганизмы, имеющие статистически значимые различия между группами: * - p -value < 0,05.

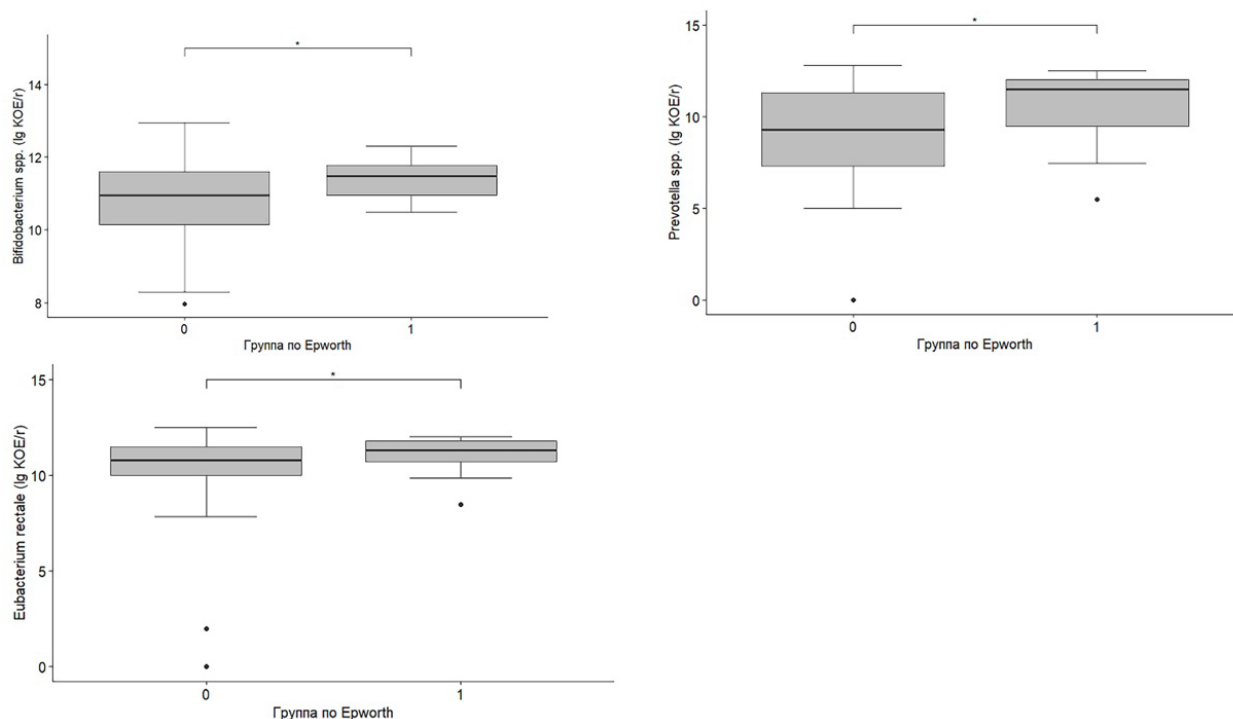


Рис. 3. Содержание микроорганизмов по результатам ПЦР в составе кишечной микробиоты в группах: контроль (0), избыточная дневная сонливость (1), сформированных по опроснику Epworth. Отмечены только статистически значимые значения: * - p -value < 0,05.

Результаты исследования показали, что низкое качество сна, выявленное с помощью опросника PSQI, у женщин в менопаузе ассоциировано с увеличением уровня *C. perfringens* в кишечном микробиоценозе. Аналогичные результаты получены в экспериментах на мышах, подвергшихся депривации и хронической фрагментации сна [2, 26, 27]. Нарушения сна сопровождались повышенным содержанием *Shigella* spp. в составе кишечной микробиоты, что согласуется с результатами экспериментального исследования [28]. Вследствие выработки токсина данный микроорганизм может вызывать серьезные нарушения в работе желудочно-кишечного тракта [29]. В выборке нашего исследования, состоящей из женщин, установлено увеличение *Enterococcus* spp. в составе кишечной микробиоты при низком качестве сна. В исследовании [30] количество *Enterococcus durans* положительно коррелировало с тяжестью нейрокогнитивных симптомов, включая качество сна и усталость, только у мужчин, а у женщин этот вид коррелировал отрицательно. Обнаружена положительная связь содержания *Enterococcus* только у женщин с синдромом хронической усталости [31].

Согласно опроснику Эпворта, установлена повышенная представленность *Bifidobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Eubacterium rectale* в составе кишечной микробиоты в группе с выраженной дневной сонливостью. *Bifidobacterium* spp. преобразуют возбуждающий нейромедиатор глутамат в основной тормозной нейромедиатор ГАМК, активирующий систему ГАМКергических рецепторов и модулирующий нарушения сна и памяти. Вклад кишечных *Bifidobacteriaceae* в ось стресс-тревога-сон связан с их способностью вырабатывать ГАМК, а улучшение качества сна сопровождается увеличением относительной численности *Bifidobacterium* spp. в кишечнике [32]. По данным одного из исследований, при повышении *Bifidobacterium* spp. при использовании пробиотиков улучшались показания дневной сонливости, однако, изначально из исследования исключены пациенты с показателями Epworth, превышающими 10 баллов. Таким образом, связь с выраженной дневной сонливостью не оценена [33]. Содержание *Eubacterium rectale* в составе кишечной микробиоты, по некоторым данным, повышено при депрессивных расстройствах [34-37], однако связь данного микроорганизма с избыточной дневной сонливостью не изучалась. Возможно, следует рассматривать изменения целостно, поскольку отмечена положительная корреляция *Bifidobacterium* spp. и *Eubacterium rectale* [38] и учитывая, что кишечный микробиом - сложная структура, тонко реагирующая не только на внешние факторы, но и на внутренние флуктуации. Снижение содержания бактерий рода *Prevotella* показано при симптомах тревожности, депрессии, бессонницы у студентов [39], а мультиомный анализ показал, что *Prevotella* может влиять на сон, регулируя метаболизм аминокислот и способствуя воспалению [5].

Микробиота кишечника взаимосвязана с циркадными ритмами. Посредниками в такой связи могут являться короткоцепочечные жирные кислоты или желчные кислоты, продуцируемые микробиотой кишечника. Влияние метаболитов микробиоты на циркадный ритм обширно и связано с другими их функциями, такими, как участие в энергетическом обмене и иммунных ре-

акциях [40, 41]. Одним из потенциальных механизмов связи между микробиотой кишечника и нарушениями сна являются гормоны мелатонин, кортизол, катехоламины, в частности норадреналин, способствующий, по некоторым данным, росту патогенных бактерий. Данный механизм рассматривался в контексте разнообразных нарушений, включая депрессивные расстройства, а терапия пробиотиками улучшала показатели оценки психического состояния и качества сна [42, 43].

Заключение. Использование тест-системы «Колонифлор» позволило получить более полные результаты по оценке состояния микробиоты кишечника в сравнении с бактериологическим анализом. Показано, что с низким качеством сна ассоциированы более высокие показатели *Enterococcus* spp., *C. perfringens*, *Shigella* spp., тогда как при избыточной дневной сонливости отмечено увеличение других представителей кишечной микробиоты: *Bifidobacterium* spp., *Prevotella* spp., *E. rectale*. Существует несколько потенциальных механизмов взаимосвязи между кишечным микробиомом и нарушениями сна. Наиболее перспективным представляется изучение роли оксидативного стресса и мелатонина.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 2, 5, 7-14, 18-20, 23, 25-42 СМ. REFERENCES)

1. Юдина Ю.В., Корсунский А.А., Аминова А.И., Абдулаева Г.Д., Продеус А.П. Микробиота кишечника как отдельная система организма. *Доказательная гастроэнтерология*. 2019; 8(4-5):36-43. DOI: 10.17116/dokgastro2019804-05136.
2. Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Червинец В.М., Миронов А.Ю., Алексеева Ю.А. Микроэкология пищеварительного тракта как показатель состояния здоровья человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 60(6):57-60.
3. Новикова В.П., Гурова М.М., Хавкина А.И., ред. Кишечная микробиота как регулятор работы органов и систем человека: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2025.
4. Семёнова Н.В., Гарашенко Н.Е., Белькова Н.Л., Никитина О.А., Новикова Е.А., Смурова Н.Е. и др. Метаноген *Methanospiraeta stadtmanae* в кишечнике женщин. Влияние на свободнорадикальное окисление и качество сна в период менопаузы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2025; 179(5):602-6. DOI: 10.47056/0365-9615-2025-179-5-602-606.
5. Колесникова Л.И., Семенова Н.В., Солодова Е.Н., Мадаева И.М. Окислительный стресс у женщин с инсомнией в разных фазах климактерического периода. *Терапевтический архив*. 2017; 89(8):50-6. DOI: 10.17116/terarkh201789850-56.
6. Мадаева И.М., Колесникова Л.И., Солодова Е.Н., Семенова Н.В. Климактерический синдром и нарушения сна. *Бюллетень Восточно-сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; 2-2:173-7.
7. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Кравчук Э.С., Ганина Е.Б. Динамика изменчивости микробиоты полости рта и толстого кишечника юношей при перемене условий жизни. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(8):507-12.
8. Стандарт О. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника [Электронный ресурс]. Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. 2003. <https://docs.cntd.ru/document/1200119089> (дата обращения: 21.04.2025).
9. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клиничко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. М.: ГЭОТАР-медиа; 2007.
10. Кожухова Е.А., Иващенко В.Д. Возможности и проблемы верификации шигеллеза и сальмонеллеза при острых диареях у взрослых. *Инфекция и иммунитет*. 2015; 5(2):137-42. DOI: 10.15789/2220-7619-2015-2-137-142.
11. Гарашенко Н.Е., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Мелатонин и микробиота кишечника. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(2):12-

23. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.2.2.

REFERENCES

- Yudina Yu.V., Korsunskiy A.A., Aminova A.I., Abdulaeva G.D., Prodeus A.P. Gut microbiota as a separate system of the body. *Dokazatel'naya gastroenterologiya*. 2019; 8(4-5):36-43. (in Russian)
- Wang T., Wang Z., Cao J., Dong Y., Chen Y. Melatonin prevents the dysbiosis of intestinal microbiota in sleep-restricted mice by improving oxidative stress and inhibiting inflammation. *Saudi Journal of Gastroenterology*. 2022; 28(3):209-17. DOI: 10.4103/sjg.sjg_110_21.
- Samoukina A.M., Mikhaylova E.S., Chervinets V.M., Mironov A.Yu., Alekseeva Yu.A. Microecology of the digestive tract as an indicator of human health. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015; 60(6):57-60. (in Russian)
- Novikova V.P., Gurova M.M., Khavkin A.I., eds. Intestinal microbiota as a regulator of human organs and systems: guide for physicians. [Kishechnaya mikrobiota kak regul'yator raboty organov i sistem cheloveka: Rukovodstvo dlya vrachev]. Moscow: GEOTAR-Media; 2025. (in Russian)
- Wang Q., Chen B., Sheng D., Yang J., Fu S., Wang J. et al. Multiomics analysis reveals aberrant metabolism and immunity linked gut microbiota with insomnia. *Microbiology spectrum*. 2022; 10(5):e00998-22.
- Semenova N.V., Garashchenko N.E., Bel'kova N.L., Nikitina O.A., Novikova E.A., Smurova N.E. et al. Methanogen Methanospaera stadtmanae in the gut of women. Effects on free radical oxidation and sleep quality during menopause. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2025; 179(5):602-6. (in Russian)
- Liu Z., Wei Z.Y., Chen J., Chen K., Mao X., Liu Q. et al. Acute sleep-wake cycle shift results in community alteration of human gut microbiome. *MSphere*. 2020; 5(1):e00914-19. DOI: 10.1128/mSphere.00914-19.
- Valentini F., Evangelisti M., Arpinelli M., Di Nardo G., Borro M., Simmaco M. et al. Gut microbiota composition in children with obstructive sleep apnoea syndrome: a pilot study. *Sleep Medicine*. 2020; 76:1407. DOI: 10.1016/j.sleep.2020.10.017.
- Wang Z., Chen W.H., Li S.X., He Z.M., Zhu W.L., Ji Y.B. et al. Gut microbiota modulates the inflammatory response and cognitive impairment induced by sleep deprivation. *Molecular Psychiatry*. 2021; 26(11):6277-92. DOI: 10.1038/s41380-021-01113-1.
- Zhang Q., Yun Y., An H., ZHao W., Ma T., Wang Z.H. et al. Gut microbiome composition associated with major depressive disorder and sleep quality. *Frontiers in Psychiatry*. 2021; 12:645045. DOI: 10.3389/fpsy.2021.645045.
- Shandilya S., Kumar S., Kumar Jha N., Kumar Kesari K., Ruokolainen J. Interplay of gut microbiota and oxidative stress: perspective on neurodegeneration and neuroprotection. *Journal of Advanced Research*. 2022; 38:223-44. DOI: 10.1016/j.jare.2021.09.005.
- Jose S., Bhalla P., Suraishkumar G.K. Oxidative stress decreases the redox ratio and folate content in the gut microbe, *Enterococcus durans* (MTCC 3031). *Scientific Reports*. 2018; 8(1):12138. DOI: 10.1038/s41598-018-30691-4.
- Ni Q., Zhang P., Li Q., Han Z. Oxidative stress and gut microbiome in inflammatory skin diseases. *Front. Cell Dev. Biol.* 2022; 10:849985. DOI: 10.3389/fcell.2022.849985.
- Semenova N., Garashchenko N., Kolesnikov S., Darenskaya M., Kolesnikova L. Gut microbiome interactions with oxidative stress: mechanisms and consequences for health. *Pathophysiology*. 2024; 31(3):309-30. DOI: 10.3390/pathophysiology31030023.
- Kolesnikova L.I., Semenova N.V., Solodova E.N., Madaeva I.M. Oxidative stress in women with insomnia in different phases of the climacteric period. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2017; 89(8):50-6. (in Russian)
- Madaeva I.M., Kolesnikova L.I., Solodova E.I., Semenova N.V. Menopause and sleep disturbances. *Byulleten' Vostochno-sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2012; 2-2:173-7. (in Russian)
- Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Kravchuk E.S., Ganina E.B. Dynamics of variability of the oral cavity and large intestine microbiota in adolescents under changing living conditions. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64(8):507-12. (in Russian)
- Xu M.Q., Pan F., Peng L.H., Yang Y.S. Advances in the isolation, cultivation, and identification of gut microbes. *Military Medical Research*. 2024; 11(1):34. DOI: 10.1186/s40779-024-00534-7.
- Buyse D.J., Reynolds III C.F., Monk T.H., Berman S.R., Kupfer D.J. The Pittsburgh sleep quality index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry research*. 1989; 28(2):193-213.
- Sunwoo B.Y., Kaufmann C.N., Murez A., Lee E., Gilbertson D., Bosomptra N.O., DeYoung P., Malhotra A. The language of sleepiness in obstructive sleep apnea beyond the Epworth. *Sleep and Breathing*. 2023; 3(27):1057-65. DOI: 10.1007/s11325-022-02703-1.
- Branch standard. Protocol for the management of patients. Intestinal dysbacteriosis. Elektronnyy fond pravovyykh i normativno-tekhnicheskikh dokumentov. 2003. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200119089> (access date: 21.04.2025). (in Russian)
- Bondarenko V.M., Matsulevich T.V. Intestinal dysbacteriosis as a clinical and laboratory syndrome: current state of the problem. Moscow: GEOTAR-media; 2007. (in Russian)
- Alexandre A., Maria K.D., Alexandre P.D., Mauro P., Maddalena Q., Patrick R. Knowledge for health and consumer safety. *The human gut microbiota: overview and analysis of the current scientific knowledge and possible impact on healthcare and well-being*. 2018; 361:k2179. DOI: 10.2760/17381.
- Kozhukhova E.A., Ivashchenko V.D. Possibilities and problems of verification of shigellosis and salmonellosis in acute diarrhea in adults. *Infektsiya i immunitet*. 2015; 5(2):137-42. (in Russian)
- Pizzato J., Tang W., Bernabeu S., Bonnin R.A., Bille E., Farfour E. et al. Discrimination of *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, and *Shigella sonnei* using lipid profiling by MALDI-TOF mass spectrometry paired with machine learning. *Microbiologyopen*. 2022; 11(4):e1313. DOI: 10.1002/mbo3.1313.
- Pang X., Zhou B., Wu J., Mo Q., Yang L., Liu T. et al. Lactaseibacillus rhamnosus GG alleviates sleep deprivation-induced intestinal barrier dysfunction and neuroinflammation in mice. *Food & Function*. 2024; 15(17):8740-58. DOI: 10.1039/d4fo00244j.
- Triplett J., Ellis D., Braddock A., Roberts E., Ingram K., Perez E. et al. Temporal and region-specific effects of sleep fragmentation on gut microbiota and intestinal morphology in Sprague Dawley rats. *Gut Microbes*. 2020; 11(4):706-20. DOI: 10.1080/19490976.2019.1701352.
- Li Y., Shao L., Mou Y., Zhang Y., Ping Y. Sleep, circadian rhythm and gut microbiota: alterations in Alzheimer's disease and their potential links in the pathogenesis. *Gut Microbes*. 2021; 13(1):1957407. DOI: 10.1080/19490976.2021.1957407.
- Mushtaq N., Hussain S., Zhang S., Yuan L., Li H., Ullah S. Molecular characterization of alterations in the intestinal microbiota of patients with grade 3 hypertension. *International journal of molecular medicine*. 2019; 44(2):513-22. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4235.
- Ganci M., Emra S., Butt H., Ball M. Associations between self-reported psychological symptom severity and gut microbiota: further support for the microgengerome. *BMC psychiatry*. 2022; 22(1): 307.
- Wallis A., Butt H., Ball M., Lewis D. P., Bruck D. Support for the microgengerome: associations in a human clinical population. *Scientific reports*. 2016; 6(1):19171. DOI:10.1038/srep19171.
- Dos Santos A., Galiè S. The microbiota-gut-brain axis in metabolic syndrome and sleep disorders: a systematic review. *Nutrients*. 2024;16(3):390. DOI: 10.3390/nu16030390.
- Sasaki H., Masutomi H., Nakamura S., Tanigawa C., Cui Y., Ishihara K. et al. Granola consumption with multiple prebiotics in Japanese participants increases Bifidobacterium abundance and improves stress and subjective sleepiness. *Frontiers in Nutrition*. 2025; 12:1551313. DOI: 10.3389/fnut.2025.1551313.
- Eicher T.P., Mohajeri M.H. Overlapping mechanisms of action of brain-active bacteria and bacterial metabolites in the pathogenesis of common brain diseases. *Nutrients*. 2022; 14(13):2661. DOI: 10.3390/nu14132661.
- Kesika P., Suganthi N., Sivamaruthi B.S., Chaiyasut C. Role of gut-brain axis, gut microbial composition, and probiotic intervention in Alzheimer's disease. *Life sciences*. 2021; 264:118627. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.118627.
- Megur A., Baltruikienė D., Bukelskienė V., Burokas A. The microbiota-gut-brain axis and Alzheimer's disease: neuroinflammation is to blame? *Nutrients*. 2020;13(1):37. DOI: 10.3390/nu13010037.
- Rong H., Xie X.H., Zhao J., Lai W.T. Wang M. B., Xu D. et al. Similarly in depression, nuances of gut microbiota: Evidences from a shotgun metagenomics sequencing study on major depressive disorder versus bipolar disorder with current major depressive episode patients. *Journal of psychiatric research*. 2019; 113:90-9. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2019.03.017.

38. Rodríguez-Lara A., Plaza-Díaz J., López-Uriarte P., Vázquez-Aguilar A., Reyes-Castillo Z., Álvarez-Mercado A.I. Fiber consumption mediates differences in several gut microbes in a subpopulation of young mexican adults. *Nutrients*. 2022;14(6):1214. DOI:10.3390/nu14061214.
39. Zhu R., Fang Y., Li H., Liu Y., Wei J., Zhang S. et al. Psychobiotic *Lactobacillus plantarum* JYLP-326 relieves anxiety, depression, and insomnia symptoms in test anxious college via modulating the gut microbiota and its metabolism. *Frontiers in immunology*. 2023; 14:1158137. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1158137.
40. Frazier K., Chang E.B. Intersection of the gut microbiome and circadian rhythms in metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2020; 31(1):25-36. DOI: 10.1016/j.tem.2019.08.013.
41. Sasso J.M., Ammar R.M., Tenchov R., Lemmel S., Kelber O., Grieswelle M. et al. Gut microbiome–brain alliance: a landscape view into mental and gastrointestinal health and disorders. *ACS Chemical Neuroscience*. 2023; 14(10):1717-63. DOI: 10.1021/acscchemneuro.3c00127.
42. Jach M.E., Serefko A., Szopa A., Sajnaga E., Golczyk H., Santos L.S. et al. The role of probiotics and their metabolites in the treatment of depression. *Molecules*. 2023; 28(7):3213. DOI: 10.3390/molecules28073213.
43. Garashchenko N.E., Semenova N.V., Kolesnikova L.I. Melatonin and gut microbiome. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024; 9(2): 12-23. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.2.2. (in Russian)