

Клиническая метагеномика — новый подход в диагностике инфекционных заболеваний человека

*В. В. ГОСТЕВ^{1,2}, Л. И. ЖЕЛЕЗОВА¹, П. С. ЧУЛКОВА¹,
А. А. АВДЕЕВА¹, О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ¹, В. А. АГЕЕВЕЦ¹,
И. А. ЦВЕТКОВА^{1,3}, А. В. ЖУРАВЛЕВ^{1,4}, С. В. СИДОРЕНКО^{1,2}

¹ ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁴ СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница им. С. П. Боткина», Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Несмотря на значительные успехи фундаментальных биологических и медицинских наук, инфекционные болезни остаются на глобальном уровне одной из ведущих причин смертей. Диагностика жизнеугрожающих состояний, таких как бактериемия, сепсис, менингит и энцефалит не редко ограничена низкой чувствительностью культурального метода. Использование ПЦР, как и разных серологических подходов, ограничено набором специфических праймеров, ДНК-зондов, антител и антигенов, которые специфичны только для узкого круга возможных потенциальных возбудителей. Точная и своевременная лабораторная диагностика инфекционных заболеваний имеет критическое значение. В последнее десятилетие сформировалось отдельное направление — клиническая метагеномика, как новый подход в медицинской микробиологии. Это диагностика без постановки клинической гипотезы (*hypothesis free diagnostics*), поскольку метод позволяет выявить потенциально любой патоген, в независимости от его биологической природы. В обзоре рассматриваются возможности и эффективность использования методов метагеномного секвенирования для идентификации бактериальных, вирусных, грибковых и паразитарных возбудителей инфекционных заболеваний человека.

Ключевые слова: клиническая метагеномика; метагеномное секвенирование; диагностика инфекций; молекулярная диагностика; таргетное секвенирование

Для цитирования: Гостев В. В., Железова Л. И., Чулкова П. С., Авдеева А. А., Калиногорская О. С., Агеевец В. А., Цветкова И. А., Журавлев А. В., Сидоренко С. В. Клиническая метагеномика — новый подход в диагностике инфекционных заболеваний человека. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (9–10): 61–70. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-61-70>. EDN: KMMVLH.

Clinical Metagenomics: a New Approach to Diagnostics of Infectious Diseases

*VLADIMIR V. GOSTEV^{1,2}, LUDMILA I. GELEZOVA¹, POLINA S. CHULKOVA¹,
ALISA A. AVDEEVA¹, OLGA S. KALINOGORSKAYA¹, VLADIMIR A. AGEEVETS¹,
IRINA A. TSVETKOVA^{1,3}, ANTON V. ZHURAVLEV^{1,4}, SERGEY V. SIDORENKO^{1,2}

¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

² North-Western State Medical University Named After I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

³ St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

⁴ Clinical Infectious Diseases Hospital named after S. P. Botkin, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Globally, infectious diseases continue to be one of the leading causes of death, even in the face of substantial advancements in basic biological and medical sciences. Diagnostics of life-threatening conditions, including bacteremia, sepsis, meningitis, and encephalitis, is frequently constrained by the low sensitivity associated with culture methods. The application of PCR and various serological methods is constrained by a defined set of specific primers, DNA probes, antibodies, and antigens that are restricted to a limited range of potential pathogens. The accuracy and timeliness of laboratory diagnostics for infectious diseases are critical. In the past decade, a new discipline has emerged — clinical metagenomics, representing a novel approach in medical microbiology. Because clinical metagenomics can identify potentially any pathogen, regardless of its biological nature, it is a hypothesis-free diagnostic approach. The benefits and efficiency of using metagenomic

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: guestvv11@gmail.com



*Correspondence to:
E-mail: guestvv11@gmail.com

EDN: KMMVLH



methods of sequencing to identify bacterial, viral, fungal, and parasitic pathogens of infectious diseases in humans are discussed in this review.

Keywords: clinical metagenomics; metagenomic sequencing; infection diagnostics; molecular diagnostics; targeted sequencing

For citation: Gostev V. V., Gelezova L. I., Chulkova P. S., Avdeeva A. A., Kalinogorskaya O. S., Ageevets V. A., Tsvetkova I. A., Zhuravlev A. V., Sidorenko S. V. Clinical metagenomics: a new approach to diagnostics of infectious diseases. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (9–10): 61–70. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-9-10-61-70>. EDN: KMMVLH.

Введение

Несмотря на значительные успехи фундаментальных биологических и медицинских наук, инфекционные болезни остаются на глобальном уровне одной из ведущих причин смертей. Так, в мире в 2019 г. инфекции явились причиной 13,7 млн смертей, из которых 7,7 млн были связаны с бактериями, а остальные — с вирусами, грибами и простейшими [1]. Эффективная этиотропная терапия указанных инфекций основана на быстрой и точной диагностике. В этой связи точная и своевременная идентификация возбудителя инфекционных заболеваний имеет критическое значение [2]. Долгое время золотым стандартом лабораторной диагностики инфекционных заболеваний человека был культуральный метод, позволяющий выделить возбудителя в чистой культуре. Однако хорошо известны и существенные ограничения данного метода, прежде всего низкая чувствительность, так для получения роста микроорганизма необходимо не менее 10^3 клеток [3]. Такую клеточную концентрацию не часто можно обнаружить в биологических образцах, особенно при исследовании жидкостей, полученных из стерильных локусов — крови и ликвора.

Помимо этого, время анализа, необходимого для получения роста культуры и её идентификации в среднем составляет более 48 ч. Существенным ограничением культурального метода является невозможность выявления вирусных возбудителей. Различные молекулярные методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот (полимеразная цепная реакция, ПЦР) характеризуются напротив высокой чувствительностью и специфичностью с минимальным временем выполнения исследования. С помощью ПЦР расширились возможности диагностики вирусных инфекций. Диагностическая ценность серологических подходов чаще всего связана с выявлением вирусных заболеваний и нередко требует проведение исследований парных сывороток человека.

Необходимо отметить также и синдромальную диагностику, обеспечивающую высокую скорость выполнения исследований. Пожалуй, самым высоким стандартом качества характеризуется технология BioFire® FilmArray®, с помощью которой менее чем за 3 ч можно провести идентификацию приоритетных бактериальных, вирусных или грибковых патогенов [4]. Использование ПЦР, как и разных серологических подходов ограничено набором специфических праймеров, ДНК-зондов, антител

и антигенов, соответственно которые специфичны только для узкого круга возможных потенциальных возбудителей. Как правило, доступные коммерческие тест-системы покрывают только наиболее часто встречающиеся возбудители. В таблице представлена сравнительная характеристика существующих подходов для этиологической диагностики инфекционных заболеваний. Таким образом, традиционная лабораторная диагностика направлена на использование определённых наборов реагентов для выявления конкретных патогенов. Выбор метода детекции и выбор определённых диагностикумов зависит от клинической картины исследуемого пациента, то есть при наличии «клинической гипотезы».

Принцип метода клинической метагеномики

В последнее десятилетие сформировалось отдельное направление в микробиологии — клиническая метагеномика (clinical metagenomics). Это направление включает два подхода — собственно метагеномное секвенирование (МС) и таргетное секвенирование. Принцип метагеномного секвенирования основан на секвенировании всех молекул ДНК и/или РНК в исследуемом биологическом образце с использованием высокопроизводительных секвенаторов поколения NGS (next-generation sequencing), способных прочитывать >50 Gb (млрд п. н.).

Основная особенность метода заключается в отсутствии необходимости предположения наличия какого-либо патогена. Иными словами, это диагностика без постановки клинической гипотезы (hypothesis free diagnostics), поскольку метод позволяет выявить потенциально любой патоген, независимо от его биологической природы. Данный метод включает несколько лабораторных этапов. Это выделение нуклеиновых кислот из исследуемого образца, подготовка ДНК-библиотек, процесс секвенирования на приборе, и биоинформатический анализ полученных данных [5].

В качестве данных выступают короткие прочтения (риды) ДНК или РНК, которые сравниваются с базами данных, содержащими ДНК-последовательности геномов живых организмов. Как правило, для проведения метагеномного секвенирования необходимо получать большое количество прочтений — >10 млн прочтений на образец. При работе со стерильными локусами

(кровь, ликвор, биоптаты органов) получают количественный результат — ДНК-прочтения соответствующие ДНК человека, и «не человеческие» ДНК-прочтения, которые потенциально могут являться фрагментами патогенов. Идентификацию ДНК-прочтений осуществляют через существующие базы данных нуклеотидных последовательностей. Количественное соотношение фрагментов ДНК человека и потенциального возбудителя при проведении клинической метагеномики, как правило, имеет соотношение $99,99 \text{ к} < 0,1$, соответственно, что требует получения сиквенса с большой глубиной покрытия, как отмечалось ранее, более 10 млн прочтений на образец.

На сегодняшний день МС возможно осуществлять на различных платформах секвенирования, например, на приборах линейки Illumina® или MGI. Получение результатов во многом зависит от пробоподготовки, времени работы самого прибора и биоинформатического анализа результатов, что в целом может составлять более 72 ч. Платформа одномолекулярного нанопорового секвенирования (Oxford Nanopore Technology, ONT) предлагает решение секвенирования в режиме реального времени, когда результат можно получить уже через шесть часов от момента получения образца в лаборатории [6].

Учитывая, что метод МС достаточно трудоёмкий, требующий наличия специализированного оборудования, реагентов и специально обученного персонала, специалиста биоинформатика, это исследование развивается по пути развёртывания в крупных исследовательских центрах или же в специализированных частных лабораториях. Например, в США существуют две лаборатории, оказывающие услуги по МС для диагностики инфекционных заболеваний — это компания Karius [7, 8] и Fry Laboratories в Аризоне [9]. В Китае также существуют коммерческие центры, где

Сравнение различных подходов лабораторной диагностики инфекционных заболеваний с точки зрения наличия или отсутствия клинической гипотезы

Comparison of different approaches to laboratory diagnostics of infectious diseases in terms of the presence or absence of a clinical hypothesis

Свойства	Методы, основанные на наличии клинической гипотезы		Отсутствие клинической гипотезы	
	культуральный	серологический	ПЦР	таргетное секвенирование
				16S или ITS секвенирование различие панели для В, Б, Г
Мишень	Живой микроорганизм	Антитела или антигены	ДНК, РНК	ДНК, РНК
Выявляемый объект (В, Б, Г, П)	Б, Г	В, Б, Г, П	В, Б, Г, П	В, Б, Г, П
Возможность оценки чувствительности Б к АБ	Да	Нет	Да, ограничено набором праймеров	Нет
Количество выявляемых патогенов	Любые культивируемые Б, Г	Часто встречающиеся патогены	Часто встречающиеся патогены, ограничено набором антител или антигенов	Большой спектр патогенов
Время анализа, ч	12–72	<24	4–24	От 24
Сложность интерпретации результатов	Низкая	Низкая	Низкая	Высокая
Стоимость исследования	Низкая	Низкая	Низкая	Высокая
Постановка диагноза на основании результатов метода	Да	Да	Да	Да, КС, МЦИ
Примечание. Б — бактерии; В — вирусы; Г — грибы; П — простейшие и паразиты; АБ — антибиотики; КС — клинический случай; МЦИ — многоцентровые исследования.				48<

Note. Б — bacteria; В — viruses; Г — fungi; П — protozoa and parasites; АБ — antibiotics; КС — clinical case; МЦИ — multicenter studies.

выполняются услуги по МС для диагностики, например компании The Beijing Genomic Institute (BGI Genomics) и IngeniGen XunMinKang Biotechnology company [9, 10].

Сравнительный анализ результатов исследований частных компаний, показывает, что уровень выявляемости различных патогенов возрастает в 2–3 раза, по сравнению с традиционными методами диагностики, однако возможны ложноположительные результаты вследствие контаминации на разных этапах пробоподготовки [8, 9, 11]. В целом стоит отметить, что возможное наличие контаминации является важнейшим лимитирующим фактором метода МС. В этой связи предлагаются различные подходы биоинформатического анализа, позволяющие дифференцировать истинные патогены от возможного загрязнения [12].

Также достаточно сложно интерпретировать результаты при секвенировании образцов, полученных не из стерильных локусов, например, отделяемого верхних или нижних дыхательных путей, где может присутствовать большое количество разнообразных микроорганизмов, включая грибы и вирусы. В таких случаях, целью исследования является поиск наиболее представленных в количественном отношении видов микроорганизмов, либо же поиск истинных, облигатных патогенов, например респираторных или кишечных вирусов.

Другой подход клинической метагеномики — это таргетное секвенирование. Наиболее распространено секвенирование фрагментов рибосомальных генов — участков гена 16S рРНК для выявления любых прокариот или секвенирование локуса ITS (Internal transcribed spacer) для выявления и идентификации большинства известных грибов [13]. В этом случае изначально проводится ПЦР для получения возможных ампликонов рибосомальных фрагментов непосредственно из биологического образца, а вторым этапом проводят NGS секвенирование полученных ампликонов. В случае с 16S рРНК секвенированием большую роль играют длина и количество амплифицируемых фрагментов этого гена.

Чаще всего проводят секвенирование V3–V4 переменных участков. Использование 16S рРНК секвенирования чревато получением ложноположительных результатов, связанных с контаминацией и особенностями биоинформатического анализа [14]. Также результаты этого метода достаточно сложно интерпретировать при секвенировании биологических образцов, полученных из нестерильных локусов. Более того, секвенирование только одного переменного участка 16S рРНК не позволяет провести идентификацию до вида, и необходимо учитывать, что для некоторых бактерий в принципе невозможно провести видовую дифференциацию только по сиквенсу гена 16S рРНК.

Например, нельзя дифференцировать *Escherichia coli* и *Shigella* spp. Тем не менее, на рынке представлены несколько продуктов, которые можно использовать для диагностики инфекционных заболеваний, в частности бактериальных бактериемий. Например, наборы SepsiTTM компании Molzym (Германия), где применяется сложная и эффективная методика дифференциального лизиса бактериальных и эукариотических клеток, а также имеются сертификаты о высокой степени очистки ферментов, не содержащих ДНК биотехнологических штаммов кишечной палочки, что исключает производственную контаминацию.

Эффективность наборов SepsiTTM была продемонстрирована как в диагностике бактериемий [15], а также диагностике других бактериальных инфекций [16, 17]. Компания ONT предлагает набор для полноразмерного секвенирования гена 16S рРНК (фрагменты V1–V9), который позволяет проводить видовую идентификацию бактериальных возбудителей [18, 19]. Необходимо обратить внимание, что использование только одного метода секвенирования 16S рРНК недостаточно для постановки диагноза. Существуют и альтернативные подходы таргетного секвенирования, в частности, использование большого набора праймеров, включающего сотни и тысячи олигонуклеотидов, специфичных для разных микроорганизмов, таким образом, в одной реакции с последующим NGS секвенированием возможно проводить идентификацию большого количества потенциальных патогенов.

Например, компания BGI предлагает продукт PMseqTM для секвенирования и идентификации более 17 000 возможных микроорганизмов различной биологической природы [20–22]. Существуют также отдельные таргетные панели для секвенирования и идентификации известных ДНК- и РНК-содержащих вирусов [23, 24].

Отдельного внимания заслуживает технология VirCapSeq, представляющая собой платформу с несколькими миллионами олигонуклеотидов разной длины, которые комплементарны фрагментам геномов различных ДНК- или РНК-вирусов, при этом набор детектируемых вирусов может быть различным [25, 26]. Благодаря такому принципу, при наличии возбудителя в исследуемом образце, в процессе ПЦР образуются несколько ампликонов, которые либо полностью перекрывают геном вируса, либо его протяжённый фрагмент. После секвенирования продуктов ПЦР возможно провести точную идентификацию возбудителя. Данная технология демонстрирует высокую чувствительность и специфичность, в особенности в диагностике вирусных нейроинфекций [27].

Стоит отметить, что на сегодняшний день нет однозначного ответа, какой вариант — метагеномное или таргетное секвенирование — более эф-

фективен для диагностики инфекционных заболеваний, у каждого подхода есть свои преимущества и недостатки. Таргетное секвенирование рибосомальных генов в большей степени нашло своё применение при анализе микробиомов. При таргетном секвенировании нет строгой необходимости в удалении (деплеции) человеческой ДНК, а при метагеномном секвенировании эта процедура желательна, поскольку все ресурсы секвенирования затрачиваются на человеческую ДНК, что в свою очередь требует получения большого количества данных секвенирования и, следовательно, значительно удорожает диагностику.

С другой стороны, метагеномное секвенирование в принципе ничем не ограничивается в спектре возможных возбудителей инфекционных заболеваний и теоретически позволяет выявлять новые неизвестные патогены. Также МС в определённых случаях позволяет выявлять гены резистентности [28]. Тем не менее, развитие клинической метагеномики идёт параллельно по двум направлениям.

Диагностика инфекционных заболеваний с помощью метагеномного секвенирования

Возможности использования метагеномного секвенирования, как диагностического инструмента, были продемонстрированы ещё в работах 2010-х гг. Например, в одной из первых работ [29] был описан следующий клинический случай. Пациент обратился в медицинское учреждение с лихорадкой и правосторонним воспалённым подмышечным лимфоузлом, который появился после травмы пальца, полученной при разделывании тушки кролика.

Эмпирическая терапия цефалоспорином III поколения привела к улучшению, но воспаление лимфоузла сохранялось длительное время. Посев образца пунктата лимфоузла не выявил роста каких-либо микроорганизмов. Однако после проведения МС содержимого лимфоузла, было получено 38 млн ДНК-прочтений, 99% из которых относились к человеческой ДНК, и 0,002% — к фрагментам ДНК *Francisella tularensis*, возбудителя туляремии. После назначения комбинации стрептомицина и миноциклина наблюдалось исчезновение воспаления.

В качестве ещё одного примера можно привести клинический случай, описанный в работе М. R. Wilson и соавт. [30]. У пациента, 14-летнего мальчика с тяжёлым первичным иммунодефицитом, находящимся в ремиссии после трёх трансплантаций костного мозга, после посещения пресноводного водоёма развились лихорадка, конъюнктивит и гематурия. Через несколько недель у пациента отмечалось развитие острого увеита и тромбоцито-

пении, а ещё через несколько месяцев подъём температуры тела до 39,5°C, с появлением тяжёлых неврологических нарушений, потребовавших введения пациента в искусственную кому.

Пациент получал антибактериальную терапию меропенемом и ванкомицином, однако это не приводило к улучшению. Результаты исследования ликвора с использованием доступных культурального, молекулярных методов диагностики не выявило каких-либо возбудителей. После проведения МС была выявлена лептоспира — *Leptospira santarosai*, смена антибактериальной терапии на пенициллин привела к полному выздоровлению пациента. Стоит отметить, что из трёх млн ДНК-прочтений только 0,016% относилось к ДНК-прочтениям возбудителя. Лептоспироз впоследствии был подтверждён серологическим методом. Недавний клинический случай описан в Германии [31], у молодой женщины 26 лет после перенесённой инфекции COVID-19 в течение полугода наблюдались односторонняя лимфоаденопатия, периодические подъёмы температуры, потеря массы тела, и обильное потоотделение в ночное время. Дифференциальная диагностика различных инфекционных, онкологических заболеваний и иммунопатологии не приводила к позитивным результатам. После проведения МС образца пунктата лимфоузла, было получено более 50 млн ДНК-прочтений, из которых только 16 — относилось к *Bartonella henselae*. Эта находка была подтверждена специфической ПЦР. Пациент призналась, что перед заболеванием COVID-19 её поцарапала кошка. После проведения терапии кларитромицином, все симптомы исчезли. Выявление возбудителей с помощью МС не ограничивается бактериальными возбудителями.

В работе С. Y. Chiu и соавт. [32] был описан случай тяжёлого энцефалита с персистирующим плеицитозом в ликворе у пожилого пациента. Несмотря на эмпирическую антибактериальную, противовирусную и противогрибковую терапию, пациент скончался. Был проведён большой объём исследований, включая ПЦР на известные вирусы, бактерии и грибы, но не было получено положительных результатов. Авторы использовали МС с приготовлением двух библиотек ДНК и РНК из образца ликвора. По результатам, из 8 млн РНК-прочтений, большая часть которых относилась к транскриптам человека, 3% приходилось на РНК-содержащий вирус энцефалита Сент-Луиса (St. Louis encephalitis virus). Подтверждением этой находки стало выделение вируса из ликвора в культуре тканей в специализированной лаборатории.

Случай фатального хронического энцефалита был описан авторами из Австралии [33]. Мужчина 34 лет вернулся из путешествия из США и после трёх недель стали появляться лихорадка, признаки энцефалита и судороги, в связи с тяжестью

заболевания пациент был переведён на ИВЛ в отделение реанимации. Из анамнеза было известно, что у пациента X-сцепленная агаммаглобулинемия. ПЦР на известные вирусы, посев ликвора и серологические исследования были отрицательными. На фоне проводимой эмпирической терапии были улучшения, и пациент был выписан, однако после этого в течение трёх лет отмечалось прогрессирование энцефалопатии, проявляющееся в потере памяти, заторможенности и треморе. Повторное исследование ликвора, а также биопсия тканей головного мозга снова не выявило возбудителей. Заболевание прогрессировало, и пациент умер после 42 мес. после первичного обращения в стационар.

По результатам МС ликвора (25 млн прочтений) и тканей мозга (14 млн прочтений) были выявлены фрагменты РНК-содержащего ортобуньявируса Cache Valley virus (CVV), эндемичного исключительно для регионов Северной и Южной Америки. Результаты МС были подтверждены методом ПЦР со специфическими праймерами, комплементарными вирусу CVV, а также иммуногистохимией с антителами против CVV.

Похожий случай тяжёлого энцефалита у 4-летнего ребёнка, вызванного флавивирусом Повассан (Powassan Virus, POWV), был описан в работе M. Farrington и соавт. [34]. При этом авторы отмечали, что после секвенирования образца ликвора были обнаружены не более десяти прочтений РНК-фрагментов вируса POWV, тем не менее, диагноз был подтверждён выявлением анти-POWV иммуноглобулинов IgM. Стоит отметить, что в обычной практике анализа данных после NGS секвенирования, такое маленькое количество прочтений с секвенатора обычно не принимается во внимание. Однако при исключении контаминации и исходя из клинической картины, связанной с обнаружением возможного патогена, одиночные и уникальные ДНК-прочтения могут быть расценены как истинные фрагменты возбудителя.

Если до 2010 г. количество публикаций с использованием МС в качестве диагностики инфекционных заболеваний составляло единицы и преимущественно это было описание отдельных клинических случаев, то к настоящему времени ежегодно публикуется большое количество исследований, включая крупные многоцентровые исследования, при этом подавляющее большинство работ публикуются из Китая и США [35, 36].

Например, в проспективное наблюдательное исследование, проведённое во Франции, было включено более 700 биологических образцов от 523 пациентов с подозрением на различные инфекции [37]. В 19% случаев удалось обнаружить различные патогены с помощью МС, при этом общий уровень сопоставимости (конкордантности) результатов МС и других

традиционных методов диагностики составлял 70%. В 84% случаев от числа несопоставимых результатов (30%) удавалось выявить патогены только с помощью МС, и в 16% случаев — результаты МС были отрицательными при положительных результатах традиционных методов. Так, с помощью МС не были обнаружены вирусы (Aichi virus, некоторые герпес вирусы, Sapovirus, HIV-1), бактерии — *Mycobacterium tuberculosis*, грибы — *Aspergillus fumigatus*, *Histoplasma* sp., *Paecilomyces lilacinus*. Отрицательные результаты МС авторы связывают с изначально низкой концентрацией патогенов в биологических образцах и сложностью выделения тотальной ДНК из некоторых образцов — биоптатов, костной ткани, ликвора.

В настоящее время метод МС используется для диагностики практически всех видов инфекций — для диагностики бактериемий, респираторных инфекций, нейроинфекций, гастроэнтеритов, урологических инфекций, инфекций костей и суставов и т. д. Пожалуй, ключевая особенность рассматриваемого подхода диагностики — это возможность выявления новых и редких патогенов, особенно при неясной и нестандартной клинической картине.

Так, в исследование Z. F. Fu и соавт. [38] были включены более 150 пациентов с лихорадкой неясного генеза, где использовались следующие критерии включения: длительное (3 нед.) повышение температуры тела $>38,3^{\circ}\text{C}$ с возможной нейтропенией ($<0,5 \times 10^9$ кл./л) и отрицательные микробиологические результаты. С помощью МС у 19% пациентов были выявлены различные патогены. Среди них преобладали вирусы — герпес-вирусы EBV и CMV; среди других микроорганизмов были идентифицированы *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, плесневые грибы *Penicillium marneffei*, *Aspergillus* spp. и в нескольких случаях — паразит *Trypanosoma brucei gambiense*. Было показано, что метод МС повышает уровень выявления клинически значимых патогенов у онкогематологических пациентов с фебрильной нейтропенией неясного генеза, что приводит к оптимизации целенаправленной антибактериальной терапии [39, 40].

Оценка эффективности методов метагеномного секвенирования в диагностике различных инфекционных заболеваний

На сегодняшний день опубликовано большое количество проспективных и ретроспективных исследований, в которых показана высокая специфичность и чувствительность метода МС при

выявлении различных патогенов — возбудителей бактериемий и сепсиса [41, 42].

Например, в ретроспективном исследовании С. Jing и соавт. [42], включающим 209 пациентов с подозрением на бактериемию, было проведено сравнение результатов МС образцов плазмы крови и результатов гемокультур. Так, при использовании МС потенциальные патогены были выявлены в 39% образцах, при использовании только культурального метода — в 27% случаях. При этом наиболее часто идентифицируемые патогены с помощью МС относились к следующим микроорганизмам — *Escherichia coli*, *Candida tropicalis* и *Human betaherpesvirus 5*.

В крупном проспективном наблюдательном исследовании К. L. Kalantar и соавт. [41] были включены пациенты отделения ОРИТ, находящиеся в критическом состоянии с подозрением на сепсис. Авторы отмечали 100% чувствительность при сравнении с культуральным методом для выявления таких микроорганизмов как *E. coli*, *S. aureus*/*S. argenteus*, и низкую сопоставимость при выявлении *Streptococcus pyogenes*, который был получен в культуре, но отрицательный в МС, и при выявлении анаэробов. Авторы связывают это с тем, что образцы для МС были взяты у пациентов после начала антибактериальной терапии.

Диагностика нейроинфекций — одно из наиболее развивающихся разделов, где всё чаще используется клиническая метагеномика. В исследовании F. McGill и соавт. [27] в группе пациентов с подозрением на серозный менингит, но с отрицательными традиционными результатами исследований ликвора, с помощью технологии VirCap-Seq в 42% случаях удалось установить возможный этиологический агент. В частности, были выявлены такие вирусы, как *Toscana virus*, *Rotavirus*, *Saffold virus*, *Human Pegivirus*, *Human Papillomavirus*, герпес-вирусы и энтеровирусы. Примечательно, что ротавирусы и папилломавирусы не входят в стандартные диагностические панели (ПЦР или серологические исследования) для идентификации нейроинфекций.

В работе М. R. Wilson и соавт. [43] было проведено однолетнее проспективное исследование, которое включало 58 пациентов с клинически верифицированными признаками менингита и энцефалита. Для этих пациентов выполнялся весь возможный спектр лабораторных исследований, включая иммуногистохимию биоптатов мозга и МС. В результате у 19 пациентов различные патогены были обнаружены с использованием как традиционных методов диагностики, так и МС. У 13 пациентов возбудитель удалось установить только с помощью МС, и среди патогенов были выявлены такие микроорганизмы, как *Nocardia farcinica*, Hepatitis E virus (HEV), St. Louis encephalitis virus (SLEV), *Candida tropi-*

calis и другие бактериальные возбудители. Авторы исследования подчёркивали, что для 13 пациентов диагноз и последующая терапия была основана только на основании результатов идентификации с помощью МС.

МС возможно применять не только с использованием стерильных жидкостей человека, но и других субстратов. Так, во многих исследованиях было показано превосходство МС над традиционными методами в этиологической диагностике пневмоний при исследовании бронхоальвеолярного лаважа [44, 45]. В многоцентровом проспективном наблюдательном исследовании А. Tsitsiklis и соавт. [46] было включено 397 детей (от 3 мес. до 17 лет) с различными инфекциями нижних дыхательных путей и нуждающихся в искусственной вентиляции лёгких. В 90% случаях удалось выявить разные этиологические агенты с помощью метода МС. Бактериальные патогены были выявлены методом МС у 46% детей с отрицательными результатами посевов. По результатам комбинации традиционных методов диагностики и МС доминирующими возбудителями пневмоний были респираторно-синцитиальный вирус, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*. Использование МС позволило дополнительно выявить *Ureaplasma parvum* и *Bocavirus*.

В исследовании S. Mu и соавт. [47] использовали метод «быстрого» секвенирования в режиме «real-time» с использованием технологии ONT для диагностики пневмоний у 297 госпитализированных взрослых пациентов. Авторы отмечали, что время, затраченное на идентификацию возбудителей от момента поступления пробы в лабораторию, составляло $6,4 \pm 1,4$ ч. При сравнении с культуральным методом и ПЦР-детекцией метод «real-time» МС характеризовался 97% чувствительностью и 88% специфичностью, при этом в 39% образцов, где не было выявлено роста микроорганизмов, удалось выявить бактериальные патогены.

В работе N. Li и соавт. [10] исследовали образцы бронхоальвеолярного лаважа, полученные от 138 госпитализированных пациентов с пневмонией. При этом сравнивали результаты идентификации возбудителей с использованием разных методов — культурального, ПЦР и МС. Бактериальные возбудители были выявлены в 53 образцах с помощью МС против 27 образцов, где использовался только культуральный метод. Вирусы были выявлены в 16 образцах, против одного с использованием ПЦР. Однако идентификация грибов с использованием МС была низкой по сравнению с культуральным методом. Авторы подчёркивали, что в 23 случаях удалось поставить окончательный диагноз и назначить соответствующую терапию только на основании результатов МС.

В метаанализе М. Lv с соавт. [48], включающем 24 исследования и более 3200 пациентов с пневмониями, отмечалась эффективность метода МС. В частности, высокий уровень идентификации возбудителей по сравнению с традиционными методами; поставленный корректный диагноз с помощью МС способствует снижению 28- и 90-дневной летальности; правильная идентификация и сокращение сроков выполнения исследования способствует снижению времени пребывания пациентов в отделении ОРИТ.

Выявление различных патогенов с помощью МС в раневом отделяемом и синовиальной жидкости эффективно применяется для диагностики инфекций костей и суставов [49].

Метод МС возможно использовать для диагностики паразитарных инфекций. Одно из первых сообщений было опубликовано М. R. Wilson и соавт. в 2015 г. [50]. Авторы описали клинический случай смертельного энцефалита у пожилой пациентки из Китая. Как и в подобных других случаях было проведено объёмное исследование ликвора на наличие различных инфекций, однако результаты были отрицательными. Только постмортальная биопсия тканей мозга с последующим проведением МС позволили выявить возбудителя — амёбу *Balamuthia mandrillaris*. В аналогичных исследованиях были описаны случаи диагностики с помощью МС ангиостронгилёза [51], лейшманиоза [52], аскаридоза [53]. Стоит однако отметить, что детекция генетического материала многих паразитов связана с определёнными сложностями, опосредованными наличием протяжённых гомополимерных повторов, и наличием локусов, идентичных человеку.

Выявление возбудителей микозов также возможно с использованием МС, в частности при исследовании стерильных локусов, однако нет единого мнения об интерпретации обнаружения дрожжевых грибов, возбудителей аспергиллёза и *Pneumocystis* в отделяемом нижних дыхательных путей. В разных исследованиях отмечают несостыковки между результатами идентификаций и клиническими исходами микозов [11, 54].

Литература/References

1. GBDA. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. G. B. D. A. R. Collaborators. *Lancet*. 2022; 400 (10369): 2221–2248.
2. Руководство по инфекционным болезням. Под ред. Е. С. Белозеров, Ю. И. Буланьков, В. В. Васильев и др. 2. СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2011; 743. ISBN 978-5-93929-219-1. [Rukovodstvo po infektsionnym boleznyam. E. S. Belozero, Yu. I. Bulan'kov, V. V. Vasil'ev i dr. (eds.). 2. SPb.: OOO «Izdatel'stvo Foliant», 2011; 743. ISBN 978-5-93929-219-1. (in Russian)]
3. Poole S., Kidd S. P., Saeed K. A review of novel technologies and techniques associated with identification of bloodstream infection etiologies and rapid antimicrobial genotypic and quantitative phenotypic determination. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018; 18 (6): 543–555. doi: 10.1080/14737159.2018.1480369.
4. Khan A. R., Hussain W. L., Shum H. C., Hassan S. U. Point-of-care testing: a critical analysis of the market and future trends. *Frontiers in Lab on a Chip Technologies*. 2024; 3.

Заключение

На сегодняшний день клиническая метагеномика — это один из самых перспективных и точных методов этиологической диагностики практически любых инфекционных заболеваний человека. Ещё одним принципиальным преимуществом метагеномного секвенирования является потенциальная возможность детекции генов резистентности, что необходимо для оптимизации антимикробной терапии [28]. Революционный подход «быстрого» секвенирования в режиме «real-time» позволит в значительной степени сократить время выявления возбудителя, что крайне важно для пациентов находящихся в критическом состоянии. Основным ограничением является сложность использования этого подхода для нестерильных локусов человека [55].

Достаточно сложно дифференцировать истинного патогена от комменсальных микроорганизмов в биологическом материале, полученным из таких локусов. Дополнительно относительно высокая стоимость и сложность выполнения МС тормозит внедрение подходов клинической метагеномики в диагностический процесс медицинских учреждений. Отсутствие универсальных стандартов, протоколов для валидации, оценки качества и воспроизводимости клинических метагеномных исследований также ограничивают широкое использование данного подхода [56].

Получаемые разными исследователями результаты существенно различаются между собой, что связано с использованием абсолютно разных «мокрых» этапов в пробоподготовке, которые включают выделение ДНК, подготовку ДНК-библиотек, использование разных платформ для секвенирования и вариабельность алгоритмов биоинформатической обработки результатов секвенирования [57]. Клиническая метагеномика находится на стадии становления, однако требуется внедрение стандартных протоколов и оценочных параметров с использованием контрольных образцов для широкого использования в диагностических лабораториях.

5. Chiu C. Y., Miller S. A. Clinical metagenomics. *Nat Rev Genet*. 2019; 20 (6): 341–355. doi: 10.1038/s41576-019-0113-7.
6. Charalampous T., Kay G. L., Richardson H., Aydin A., Baldan R. et al. Nanopore metagenomics enables rapid clinical diagnosis of bacterial lower respiratory infection. *Nat Biotechnol*. 2019; 37 (7): 783–792. doi: 10.1038/s41587-019-0156-5.
7. Blauwkamp T. A., Thair S., Rosen M. J., Blair L., Lindner M. S. et al. Analytical and clinical validation of the karius plasma next-generation sequencing test for infectious disease. *Nat Microbiol*. 2019; 4 (4): 663–674. doi: 10.1038/s41564-018-0349-6.
8. Thair S., Seng H., Holleman D., Hong D., Blauwkamp T. et al. The SEP-SEQ trial: clinical validation of the karius plasma next-generation sequencing test for pathogen detection in sepsis. *Open Forum Infectious Diseases*. 2017; 4 (Suppl 1): 735–735.
9. Batool M., Galloway-Pena J. Clinical metagenomics-challenges and future. *Front Microbiol*. 2023; 14: 1186424. doi: 10.3389/fmicb.2023.1186424.
10. Li N., Ma X., Zhou J., Deng J., Gu C. et al. Clinical application of metagenomic next-generation sequencing technology in the diagnosis and

- treatment of pulmonary infection pathogens: A prospective single-center study of 138 patients. *J Clin Lab Anal.* 2022; 36 (7): e24498. doi: 10.1002/jcla.24498.
11. Hogan C. A., Yang S., Garner O. B., Green D. A., Gomez C. A. et al. Clinical impact of metagenomic next-generation sequencing of plasma cell-free DNA for the diagnosis of infectious diseases: a multicenter retrospective cohort study. *Clin Infect Dis.* 2021; 72 (2): 239–245. doi: 10.1093/cid/ciaa035.
 12. Du J., Zhang J., Zhang D., Zhou Y., Wu P. et al. Background filtering of clinical metagenomic sequencing with a library concentration-normalized model. *Microbiol Spectr.* 2022; 10 (5): e0177922. doi: 10.1128/spectrum.01779-22.
 13. Fida M., Khalil S., Abu Saleh O., Challener D. W., Sohail M. R. et al. Diagnostic value of 16S ribosomal RNA gene polymerase chain reaction/sanger sequencing in clinical practice. *Clin Infect Dis.* 2021; 73 (6): 961–968. doi: 10.1093/cid/ciab167.
 14. Salter S. J., Cox M. J., Turek E. M., Calus S. T., Cookson W. O. et al. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biol.* 2014; 12: 87. doi: 10.1186/s12915-014-0087-z.
 15. Stevenson M., Pandor A., Martyn-St James M., Rafia R., Uttley L. et al. Sepsis: the lightcycler sepiFast test MGRADE (R), sepiTest and IRIDICA BAC BSI assay for rapidly identifying bloodstream bacteria and fungi — a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess.* 2016; 20 (46): 1–246. doi: 10.3310/hta20460.
 16. Haag H., Locher F., Nolte O. Molecular diagnosis of microbial aetiologies using SepsitTest in the daily routine of a diagnostic laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 76 (4): 413–418. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.04.027.
 17. Meyer T., Franke G., Polywka S. K., Lutgehetmann M., Gbadamosi J. et al. Improved detection of bacterial central nervous system infections by use of a broad-range PCR assay. *J Clin Microbiol.* 2014; 52 (5): 1751–1753. doi: 10.1128/JCM.00469-14.
 18. Vanhee M., Flore K., Vanthourenhout S., Hellemans J., Muyldermans A. et al. Implementation of full-length 16S nanopore sequencing for bacterial identification in a clinical diagnostic setting. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2024; 108 (2): 116156. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2023.116156.
 19. Lao H. Y., Wong L. L., Hui Y., Ng T. T., Chan C. T. et al. The clinical utility of Nanopore 16S rRNA gene sequencing for direct bacterial identification in normally sterile body fluids. *Front Microbiol.* 2023; 14: 1324494. doi: 10.3389/fmicb.2023.1324494.
 20. Chen X., Cheng K., Sun X., Zhang Y., Cao Z. et al. Comparison of traditional methods and high-throughput genetic sequencing in the detection of pathogens in pulmonary infectious diseases. *Ann Transl Med.* 2021; 9 (8): 702. doi: 10.21037/atm-21-1322.
 21. Wang C., You Z., Fu J., Chen S., Bai D. et al. Application of metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of pulmonary invasive fungal disease. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12: 949505. doi: 10.3389/fcimb.2022.949505. eCollection 2022.
 22. Zhang M., Wang W., Li X., Zhang X., Yang D. Fast and precise pathogen detection and identification of overlapping infection in patients with CUTI based on metagenomic next-generation sequencing: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2021; 100 (49): e27902. doi: 10.1097/MD.00000000000027902.
 23. Yang Y., Walls S. D., Gross S. M., Schroth G. P., Jarman R. G. et al. Targeted sequencing of respiratory viruses in clinical specimens for pathogen identification and genome-wide analysis. *Methods Mol Biol.* 2018; 1838: 125–140. doi: 10.1007/978-1-4939-8682-8_10.
 24. Pogka V., Papadopoulou G., Valiakou V., Sgouras D. N., Mentis A. F. et al. Targeted virome sequencing enhances unbiased detection and genome assembly of known and emerging viruses—the example of SARS-CoV-2. *Viruses.* 2022; 14 (6): 1272. doi: 10.3390/v14061272.
 25. Briese T., Kapoor A., Mishra N., Jain K., Kumar A. et al. Virome capture sequencing enables sensitive viral diagnosis and comprehensive virome analysis. *mBio.* 2015; 6 (5): e01491–15. doi: 10.1128/mBio.01491-15.
 26. Kapoor V., Briese T., Ranjan A., Donovan W. M., Mansukhani M. M. et al. Validation of the VirCapSeq-VERT system for differential diagnosis, detection, and surveillance of viral infections. *J Clin Microbiol.* 2024; 62 (1): e0061223. doi: 10.1128/jcm.00612-23.
 27. McGill F., Tokarz R., Thomson E. C., Filipe A., Sameroff S. et al. Viral capture sequencing detects unexpected viruses in the cerebrospinal fluid of adults with meningitis. *J Infect.* 2022; 84 (4): 499–510. doi: 10.1016/j.jinf.2021.12.042.
 28. Gan M., Zhang Y., Yan G., Wang Y., Lu G. et al. Antimicrobial resistance prediction by clinical metagenomics in pediatric severe pneumonia patients. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2024; 23 (1): 33. doi: 10.1186/s12941-024-00690-7.
 29. Kuroda M., Sekizuka T., Shinya F., Takeuchi F., Kanno T. et al. Detection of a possible bioterrorism agent, *Francisella* sp., in a clinical specimen by use of next-generation direct DNA sequencing. *J Clin Microbiol.* 2012; 50 (5): 1810–2. doi: 10.1128/JCM.06715-11.
 30. Wilson M. R., Naccache S. N., Samayoa E., Biagtan M., Bashir H. et al. Actionable diagnosis of neuroleptospirosis by next-generation sequencing. *N Engl J Med.* 2014; 370 (25): 2408–2417. doi: 10.1056/NEJMoa1401268.
 31. Aubry A., Corvilain E., Ghelfenstein-Ferreira T., Camelena F., Meignin V. et al. Unmasking *Bartonella henselae* infection in the shadows of long COVID thanks to clinical metagenomics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2024; 43 (5): 1025–1029. doi: 10.1007/s10096-024-04801-2.
 32. Chiu C. Y., Coffey L. L., Murkey J., Symmes K., Sample H. A. et al. Diagnosis of fatal human case of St. Louis encephalitis virus infection by metagenomic sequencing, California, 2016. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23 (10): 1964–1968. doi: 10.3201/eid2310.161986.
 33. Wilson M. R., Suan D., Duggins A., Schubert R. D., Khan L. M. et al. A novel cause of chronic viral meningoencephalitis: Cache Valley virus. *Ann Neurol.* 2017; 82 (1): 105–114. doi: 10.1002/ana.24982.
 34. Farrington M., Elenz J., Ginsberg M., Chiu C. Y., Miller S. et al. Powassan virus infection detected by metagenomic next-generation sequencing, Ohio, USA. *Emerg Infect Dis.* 2023; 29 (4): 838–841. doi: 10.3201/eid2904.221005.
 35. He S., Wei J., Feng J., Liu D., Wang N. et al. The application of metagenomic next-generation sequencing in pathogen diagnosis: a bibliometric analysis based on Web of Science. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023; 13: 1112229. doi: 10.3389/fcimb.2023.1112229.
 36. Forbes J. D., Knox N. C., Peterson C. L., Reimer A. R. Highlighting clinical metagenomics for enhanced diagnostic decision-making: a step towards wider implementation. *Comput Struct Biotechnol J.* 2018; 16: 108–120. doi: 10.1016/j.csbj.2018.02.006.
 37. Fourgeaud J., Regnault B., Ok V., Da Rocha N., Sitterle E. et al. Performance of clinical metagenomics in France: a prospective observational study. *Lancet Microbe.* 2024; 5 (1): e52–e61. doi: 10.1016/S2666-5247(23)00244-6.
 38. Fu Z. F., Zhang H. C., Zhang Y., Cui P., Zhou Y. et al. Evaluations of clinical utilization of metagenomic next-generation sequencing in adults with fever of unknown origin. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 11: 745156. doi: 10.3389/fcimb.2021.745156.
 39. Feng S., Rao G., Wei X., Fu R., Hou M. et al. Clinical metagenomic sequencing of plasma microbial cell-free DNA for febrile neutropenia in patients with acute leukaemia. *Clin Microbiol Infect.* 2024; 30 (1): 107–113. doi: 10.1016/j.cmi.2023.05.034.
 40. Schulz E., Grumaz S., Hatzl S., Gornicec M., Valentin T. et al. Pathogen detection by metagenomic next-generation sequencing during neutropenic fever in patients with hematological malignancies. *Open Forum Infect Dis.* 2022; 9 (8): ofac393. doi: 10.1093/ofid/ofac393.
 41. Kalantar K. L., Neyton L., Abdelghany M., Mick E., Jauregui A. et al. Integrated host-microbe plasma metagenomics for sepsis diagnosis in a prospective cohort of critically ill adults. *Nat Microbiol.* 2022; 7 (11): 1805–1816. doi: 10.1038/s41564-022-01237-2.
 42. Jing C., Chen H., Liang Y., Zhong Y., Wang Q. et al. Clinical evaluation of an improved metagenomic next-generation sequencing test for the diagnosis of bloodstream infections. *Clin Chem.* 2021; 67 (8): 1133–1143. doi: 10.1093/clinchem/hvab061.
 43. Wilson M. R., Sample H. A., Zorn K. C., Arevalo S., Yu G. et al. Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis. *N Engl J Med.* 2019; 380 (24): 2327–2340. doi: 10.1056/NEJMoa1803396.
 44. Wang Y. N., Wu Y. T., Cao L., Niu W. Q. Application of metagenomic next-generation sequencing in the etiologic diagnosis of refractory pneumonia in children. *Front Microbiol.* 2024; 15: 1357372. doi: 10.3389/fmicb.2024.1357372.
 45. Zhan Y., Xu T., He F., Guan W. J., Li Z. et al. Clinical evaluation of a metagenomics-based assay for pneumonia management. *Front Microbiol.* 2021; 12: 751073. doi: 10.3389/fmicb.2021.751073.
 46. Tsitsiklis A., Osborne C. M., Kamm J., Williamson K., Kalantar K. et al. Lower respiratory tract infections in children requiring mechanical ventilation: a multicentre prospective surveillance study incorporating airway metagenomics. *Lancet Microbe.* 2022; 3 (4): e284–e293. doi: 10.1016/S2666-5247(21)00304-9.
 47. Mu S., Hu L., Zhang Y., Liu Y., Cui X. et al. Prospective evaluation of a rapid clinical metagenomics test for bacterial pneumonia. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 11: 684965. doi: 10.3389/fcimb.2021.684965.
 48. Lv M., Zhu C., Zhu C., Yao J., Xie L. et al. Clinical values of metagenomic next-generation sequencing in patients with severe pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023; 13: 1106859. doi: 10.3389/fcimb.2023.1106859.
 49. d'Humieres C., Gaia N., Gueye S., de Lastours V., Leflon-Guibout V. et al. Contribution of clinical metagenomics to the diagnosis of bone and joint infections. *Front Microbiol.* 2022; 13: 863777. doi: 10.3389/fmicb.2022.863777.
 50. Wilson M. R., Shanbhag N. M., Reid M. J., Singhal N. S., Gelfand J. M. et al. Diagnosing balamuthia mandrillaris encephalitis with metagenomic deep sequencing. *Ann Neurol.* 2015; 78 (5): 722–30. doi: 10.1002/ana.24499.
 51. Feng L., Zhang A., Que J., Zhou H., Wang H. et al. The metagenomic next-generation sequencing in diagnosing central nervous system an-

giostromglyiasis: a case report. BMC Infect Dis. 2020; 20 (1): 691. doi: 10.1186/s12879-020-05410-y.

52. Williams E., Isles N. S., Seemann T., Kilpatrick T., Grigg A. et al. Case report: confirmation by metagenomic sequencing of visceral leishmaniasis in an immunosuppressed returned traveler. Am J Trop Med Hyg. 2020; 103 (5): 1930–1933. doi: 10.4269/ajtmh.19-0841.
53. Schneeberger P. H. H., Becker S. L., Pothier J. F., Duffy B., N'Goran E. K. et al. Metagenomic diagnostics for the simultaneous detection of multiple pathogens in human stool specimens from Cote d'Ivoire: a proof-of-concept study. Infect Genet Evol. 2016; 40: 389–397. doi: 10.1016/j.meegid.2015.08.044.
54. Hoang M. T. V., Irinyi L., Hu Y., Schwessinger B., Meyer W. Long-reads-based metagenomics in clinical diagnosis with a special focus on fungal

infections. Front Microbiol. 2021; 12: 708550. doi: 10.3389/fmicb.2021.708550.

55. Lin L., Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. BMC Immunol. 2017; 18 (1): 2.
56. Greninger A. L. The challenge of diagnostic metagenomics. Expert Rev Mol Diagn. 2018; 18, (7): 605–615. doi: 10.1080/14737159.2018.1487292.
57. Dulanto Chiang A., Dekker J. P. From the pipeline to the bedside: advances and challenges in clinical metagenomics. J Infect Dis. 2020; 221 (Suppl 3): S331–S340. doi: 10.1093/infdis/jiz151.

Поступила / Received 06.10.2024

Принята в печать / Accepted 16.10.2024

Информация об авторах

Гостев Владимир Валерьевич — к. б. н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»; доцент кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Железова Людмила Ильинична — к. м. н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Чулкова Полина Сергеевна — младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Авдеева Алиса Александровна — лаборант-исследователь научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Калиногорская Ольга Серафимовна — к. м. н., научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Агеевец Владимир Андреевич — к. б. н., научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Цветкова Ирина Анатольевна — к. б. н., младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»; ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический университет, Санкт-Петербург, Россия

Журавлев Антон Вячеславович — врач-инфекционист гепатологического центра СПб ГБУЗ «Клиническая инфекционная больница имени С. П. Боткина»; аспирант ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Сидоренко Сергей Владимирович — д. м. н., профессор, чл.-корр. РАН, заведующий научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России»; профессор кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

About the authors

Vladimir V. Gostev — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Associate Professor, Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University Named After I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

Ludmila I. Gelezova — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

Polina S. Chulkova — Junior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

Alisa A. Avdeeva — Laboratory assistant-researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

Olga S. Kalinogorskaya — Ph. D. in Medicine, Research Fellow at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

Vladimir A. Ageevets — Ph. D. in Biology, Research Fellow at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

Irina A. Tsvetkova — Ph. D. in Biology, Junior Researcher at the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Assistant at the Department of Microbiology, Virology, and Immunology, St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

Anton V. Zhuravlev — Infectious disease specialist at the Hepatology Center, Clinical Infectious Diseases Hospital named after S. P. Botkin; postgraduate student, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russia

Sergey V. Sidorenko — D. Sc. in Medicine, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Professor of the Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University Named After I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia