

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.33-008.3-053.2-07:616.34-008.87]-078

Ракова Е.Б.<sup>1,2</sup>, Немченко У.М.<sup>1</sup>, Попкова С.М.<sup>1</sup>, Сердюк Л.В.<sup>1</sup>, Долгих В.В.<sup>1</sup>, Иванова Е.И.<sup>1</sup>, Савелькаева М.В.<sup>1</sup>

## ВИДОВАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИФИДОБАКТЕРИЙ В КИШЕЧНОМ БИОТОПЕ ДЕТЕЙ С ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИСПЕПСИЕЙ

<sup>1</sup>ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАН, 664025, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, 664003, г. Иркутск

Цель работы состояла в изучении видового спектра и комбинационного разнообразия бифидобактерий у детей с функциональной диспепсией (ФД). Обследовано 73 ребенка с ФД в возрасте 4–6 лет. Группу сравнения по общей характеристике микробиоты толстой кишки составили 100 здоровых детей, сопоставимых по возрасту. У 32 из них был изучен видовой спектр бифидобактерий в кишечнике. Видовая диагностика бифидобактерий проводилась с использованием метода полимеразной цепной реакции. У детей с ФД выявлены дисбиотические изменения в кишечном биотопе, характеризующиеся дефицитом бифидобактерий и селекцией оппортунистических микроорганизмов. Показано изменение видовой структуры бифидобактерий у детей с ФД: снижение распространенности популяций *Bifidobacterium catenulatum* и появление редких видов бифидобактерий – *B. dentium* и *B. angulatum*. Установлены различия в формировании видового предпочтения бифидобактерий в условиях совместного вегетирования в кишечном биотопе детей с ФД и у здоровых. Комплексный анализ микрoэкологического статуса кишечника детей с ФД с использованием неинвазивных методов, включающий изучение видового профиля, ассоциативного потенциала, коммуникативных особенностей бифидобактерий дополнит комплекс диагностических критериев, позволит разработать прогностические маркеры и определить параметры последующей терапии ФД.

Ключевые слова: функциональная диспепсия; микробиота; толстая кишка; бифидобактерии; полимеразная цепная реакция.

Для цитирования: Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (10): 50–53.

Rakova E.B.<sup>1,2</sup>, Nemtchenko U.M.<sup>1</sup>, Popkova S.M.<sup>1</sup>, Serdyuk L.V.<sup>1</sup>, Dolgikh V.V.<sup>1</sup>, Ivanova E.I.<sup>1</sup>, Savelkaeva M.V.<sup>1</sup>

THE SPECIES CHARACTERISTIC OF BIFIDOBACTERIA IN INTESTINAL BIOTOPE OF CHILDREN WITH FUNCTIONAL DYSPEPSIA

<sup>1</sup>The research center of problems of family health and human reproduction of the Siberian Branch of the Russian academy of sciences, 664025 Irkutsk, Russia; <sup>2</sup>The Irkutsk state medical university of Minzdrav of Russia, 664003 Irkutsk, Russia

The study was carried out to investigate species specter and combinational variety of bifidobacteria in children with functional dyspepsia. The examined sampling included 73 children with functional dyspepsia aged from 4 to 6 years. The comparison group according common characteristic of microbiota of large intestine included 100 healthy children comparative by age. In 32 out of all examined children species specter of bifidobacteria in intestine was analyzed. The species diagnostic of bifidobacteria was implemented by using technique of polymerase chain reaction. In children with functional dyspepsia the analysis established dysbiosis alterations in intestinal biotope, characterizing by deficiency of bifidobacteria and selection of opportunistic microorganisms. The alteration of species structure of bifidobacteria in children with functional dyspepsia is demonstrated: decreasing of prevalence of populations of *Bifidobacterium catenulatum* and appearance of rare species of bifidobacteria *B. dentium* and *B. angulatum*. The differences are established concerning formation of species preference of bifidobacteria in conditions of joint vegetation in intestinal biotope of children with functional dyspepsia and in healthy children. The comprehensive analysis of micro-ecological status of intestine of children with functional dyspepsia using non-invasive techniques and including analysis of species profile, associative potential, communicative capacities of bifidobacteria complements complex of diagnostic criteria, permits to develop prognostic markers and to determine parameters of following therapy of functional dyspepsia.

Key words: functional dyspepsia; microbiota; large intestine; bifidobacteria; polymerase chain reaction

Citation: *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015; 60 (10): 50–53. (in Russ.)

**Введение.** В результате исследований, проведенных в последние годы, обнаружено основополагающее влияние микробиоты на состояние здоровья человека, выявлена связь между микробиомом человека и здоровьем / болезнью [1]. Изменения в структуре микробиоты кишечника связаны со многими патологическими состояниями, включая воспалительные заболевания кишечника, аллергию, ожирение [2]. Нарушения функций пищеварительной системы в детском

возрасте занимают значительное место в структуре патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Дети с функциональной патологией составляют около 30% всех госпитализируемых больных гастроэнтерологического профиля [3]. Принятый на XI Конгрессе детских гастроэнтерологов России (2005) рабочий протокол диагностики и лечения функциональных заболеваний органов пищеварения у детей включает рекомендации по нормализации микрофлоры, так как эти заболевания сопровождаются дисбиозом кишечника. Патологические изменения микробиоты кишечника тесно связаны со снижением иммунного ответа, изменением систем адаптации. У детей с дисбиозами очень часто (в 86,7% случаев) диагностируется функциональная патология. Не-

Для корреспонденции: Ракова Елена Борисовна, lenova\_@mail.ru

For correspondence: Rakova E.B., lenova\_@mail.ru

смотря на последние достижения гастроэнтерологии, диагностика и лечение функциональной диспепсии (ФД) у детей являются сложной проблемой, решение которой невозможно без глубокого изучения микробиоты кишечника.

Ведущую роль в поддержании гомеостаза в кишечнике играют бифидобактерии. Это связано с широким спектром выполняемых ими функций, в том числе с защитой от экспансии патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Дефицит бифидобактерий является одним из основных патогенетических факторов длительных кишечных дисфункций у детей и взрослых. Характеристика видового разнообразия бифидобактерий, их качественное и количественное соотношение в кишечнике человека являются важным индикатором степени влияния внешних дестабилизаторов (продуктов техногенного загрязнения, некачественных продуктов питания, лекарственных средств). Обнаружена корреляция между видовым составом бифидобактерий и наличием заболеваний кишечника у детей [4, 5]. Большое разнообразие видов бифидобактерий у детей оказывает, как полагают, стимулирующее действие на развитие и созревание иммунной системы. Результаты многих исследований подтверждают видоспецифичность этого воздействия [6]. Одни виды (*Bifidobacterium bifidum*, *B. dentium*, *B. longum*), воздействуя на Th1 и Th2, запускают «цитокиновый каскад» с синтезом провоспалительных цитокинов, у других видов (*B. breve*) такая способность слабая или вообще отсутствует (*B. adolescentis*) [7]. Современный уровень знаний дает основание считать, что анализ видового профиля, комбинационного разнообразия бифидобактерий и выявление возможных причинно-следственных связей дает дополнительную ценную информацию для диагностики и последующей терапии заболеваний органов пищеварения.

Цель работы состояла в изучении спектра видового и комбинационного разнообразия бифидобактерий в кишечной микробиоте детей с ФД.

**Материалы и методы.** Наблюдали группу детей, состоящую из 73 человек, проживающих в Иркутске и проходивших обследование в гастроэнтерологическом отделении клиники НЦ ПЗСРЧ СО РАМН. Диагноз «функциональная диспепсия» (К30 по МКБ-10) верифицирован с помощью анамнестических, клинико-инструментальных и лабораторных методов. У всех детей исключены хронические заболевания, в том числе ЖКТ. Они не получали антибактериальные и пробиотические препараты в предшествующие 3 мес. Диспептические симптомы у этих детей наблюдались не менее 12 нед за последний год. В качестве контрольной группы обследованы 100 здоровых детей сопоставимого возраста. У 32 из них изучен видовой спектр бифидобактерий кишечника. Выполненная работа не ущемляла права и не подвергала опасности благополучие субъектов обследования, осуществлена с информированного согласия родителей пациентов согласно Приказу Минздрава России № 266 от 19.06.03, соответствует этическим нормам Хельсинкской декларации (2000 г.).

Бактериологическое исследование видового и количественного состава содержимого кишечника проводили по стандартным методикам [8, 9]. Полученные данные о состоянии микробиоценоза толстой кишки сравнивались с нормативами Отраслевого стандарта [10]. Материал собран в течение 2008–2011 гг. Для выделения и идентификации микроорганизмов использовали селективные питательные среды производства ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия; Himedia, Индия, коммерческие идентификационные тест-системы производства «PLIVA-Lachema Diagnostika», Чехия; Himedia, Индия. Для характеристики взаимодействия (т. е. силы межмикробных связей) между видами бифидобактерий, составляющих лидирующие ассоциации, использовали экологический подход. Рассматривалось отношение  $P$  к  $C$ , где  $P$  – вероятное число выборов, в котором два случайно попавших вида живут совместно, равное  $ab/N$ ,  $C$  – число выборов, содержащих оба вида;  $a$  – число выборов с видом  $A$ ;  $b$  – число выборов с видом  $B$ ;  $N$  – общее число выборов. При этом считали: если  $P > C$ , оба вида исключают друг друга; если  $P = C$ ,

виды могут распределяться случайно; если  $P < C$ , оба вида склонны к совместному обитанию [8].

**Молекулярно-генетические методы.** Бактериальную ДНК бифидобактерий выделяли с использованием комплекта реагентов ДНК-сорб-АМ (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Молекулярно-генетический анализ проводили методом ПЦР с использованием видоспецифических праймеров на основе гена 16S рРНК [11] к восьми видам бифидобактерий (*B. catenulatum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. angulatum*, *B. dentium*) с помощью коммерческого набора AmpliSens-200-1 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Положительным контролем для типирования бифидобактерий служил стандартный маркер длин фрагментов ДНК (ZipRuler Express DNA Ladder Set, длина фрагментов от 200 до 20 000 н.о.; Fermentas, Литва). Отрицательным контролем служила проба, в реакционной смеси которой отсутствовала искомая ДНК. Описание методики дано ранее [12].

Статистическая обработка данных произведена с помощью лицензированных прикладных программ «MS Excel for Windows» и «Statgrafics» с учетом конкретных целей решавшейся задачи. Вычислялись основные показатели параметрических методов вариационной статистики при критическом значении уровня значимости  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** У детей с ФД выявлены количественные и видовые изменения микробиоты кишечника относительно нормативов [10] и по сравнению с группой здоровых. Основные из них: дефицит бифидобактерий у  $31,5 \pm 5,4\%$ , снижение их популяционной плотности до  $7,52 \pm 1,19$  КОЕ/г (колониеобразующих единиц на 1 г) и селекция на этом фоне оппортунистических микроорганизмов, в частности представителей семейства *Enterobacteriaceae* (31,4% случаев) и грибов рода *Candida* (8,2% случаев) (рис. 1). Незначительный дефицит бифидобактерий, лактобацилл, индикация атипичных эшерихий, стафилококков наблюдался и у здоровых детей, но различия по этим показателям не были статистически значимыми ( $p \geq 0,1$ ). В более ранних исследованиях нами показано, что и у здоровых детей, проживающих в Иркутске, регистрировался дефицит бифидобактерий [8].

Бактериологический анализ не дает полного представления о взаимоотношениях микроорганизмов друг с другом в рамках микрэкосистемы и с организмом человека в целом, не проясняет механизмы и вероятных путей перехода от симбиоза к взаимной агрессии. Более глубокое и детальное изучение бифидобактерий как основного представителя индигенной микрофлоры кишечника, выполняющего ключевые функции, имеет большое

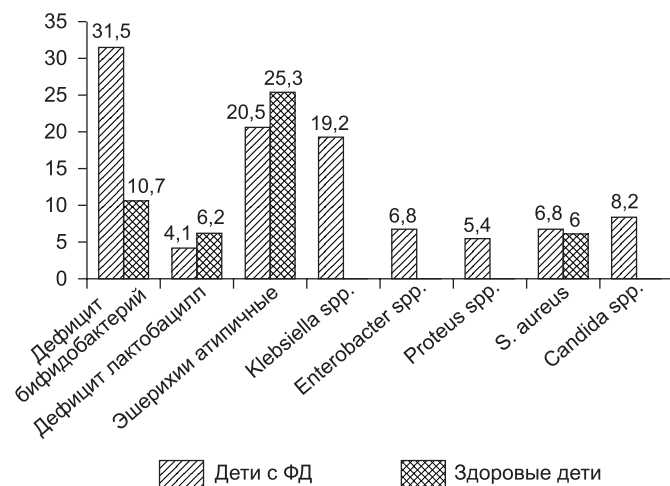


Рис. 1. Основные показатели дисбиотических изменений в кишечной микробиоте детей с ФД по сравнению со здоровыми детьми.

По оси ординат – частота встречаемости в %.

Таблица 1

**Видовая приоритетность бифидобактерий (в %) у детей с ФД и у здоровых детей**

Вид бифидобактерий	Дети с ФД (n = 73)	Здоровые дети (n = 32)
<i>B. catenulatum</i>	65,7±5,5	100,0†*
<i>B. longum</i>	63,0±5,6	76,0±3,4
<i>B. bifidum</i>	54,7±5,9*†	33,0±3,7
<i>B. adolescentis</i>	36,9±5,6	48,0±3,9
<i>B. breve</i>	13,8±4,0	29,0±3,6†*
<i>B. infantis</i>	9,6±3,44	48,0±3,9†*
<i>B. angulatum</i>	8,2±1,7†**	0
<i>B. dentium</i>	16,4±4,3†**	0

Примечание. Представлены суммарные данные. Персистенция в моновидовом варианте и в составе ассоциаций. \* –  $p = 0,01$ ; \*\* –  $p = 0,001$ .

значение особенно при патологии органов пищеварения у детей. В результате видового генотипирования 73 культуральных образца, полученных от детей с ФД, и 32 – от здоровых детей, выявлен различный спектр представительства исследуемых видов бифидобактерий. У детей с ФД чаще остальных регистрировались *B. catenulatum* (65,7±5,5%), *B. longum* (63,0±5,6%), *B. bifidum* (54,7±5,9%), *B. adolescentis* (36,9±5,6%). Минорные виды бифидобактерий представлены *B. dentium*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. angulatum*. Сравнительный анализ видового состава бифидобактерий, изолированных от здоровых и детей с ФД, выявил ключевые различия: безусловное доминирование *B. catenulatum* у здоровых детей ( $p = 0,01$ ); снижение частоты регистрации *B. catenulatum* и *B. infantis* у детей с ФД относительно здоровых детей ( $p = 0,01$ ); появление редких видов – *B. dentium* и *B. angulatum*, у детей с ФД (табл. 1).

Бифидобактерии в большинстве случаев вегетировали в виде ассоциаций. У здоровых детей видовые композиции бифидобактерий встречались в 95,2% случаев, у детей с ФД – заметно реже (73,6%). Основу всех видовых ассоциаций составлял доминирующий вид. Наиболее часто встречались сочетания доминирующего вида с преобладающими. У здоровых детей лидировала композиция *B. catenulatum* + *B. longum* (76%), а у детей с ФД она встречалась лишь в 42,4% случаев. В контрольной группе определялось безусловное доминирование одной ассоциации с большим отрывом по частоте встречаемости от других. Следующие по рейтингу сочетания: *B. bifidum* + *B. longum* и *B. catenulatum* + *B. longum* встречались с одинаковой, но значительно меньшей относительно лидеров частотой. У больных детей явного доминирования какой-либо ассоциации не наблюдалось, а преобладающие видовые сочетания распределялись более равномерно: *B. bifidum* + *B. catenulatum* (28 человек – 38,4%); *B. bifidum* + *B. longum* (22 человека – 30,1%); *B. bifidum* + *B. adolescentis* (23 человека – 31,5%). Анализ композиционного состава

ассоциаций показал, что у здоровых детей моновидовая персистенция бифидобактерий встречалась крайне редко; обнаружена тенденция к многокомпонентности видовых композиций и увеличению видового разнообразия бифидобактерий в составе ассоциаций. У больных бифидобактерии достаточно часто вегетировали в моновидовом варианте (21,9%), а встречаемость многокомпонентных видовых композиций снижалась (рис. 2).

В фокусе научных интересов в настоящее время находится не только детальное исследование видового спектра, композиционного состава микроорганизмов кишечника, но и характер их коммуникаций в норме и при патологии. Анализ взаимоотношений видов бифидобактерий в парных сочетаниях в рамках биоценоза дает такую информацию. Расчеты показали избирательное отношение видов к совместному вегетированию. В кишечной микробиоте детей с ФД один из доминантов – *B. bifidum* склонен к сосуществованию с другим лидером, *B. catenulatum*, и преобладающим – *B. adolescentis*, но негативен по отношению к *B. longum*, который, по другим данным, лидирует у здоровых детей [13]. В контрольной группе подобного отторжения признанного доминанта нет, и ассоциация *B. bifidum* + *B. longum* оценивалась как состоятельная и стабильная ( $P < C$ ). Доминирующие виды бифидобактерий (*B. longum* и *B. catenulatum*) в составе самых распространенных ассоциаций у детей обеих групп не склонны к совместному вегетированию. Вероятно, обоюдное лидерство породило конкурентные отношения. Этот феномен требует осмысления и дополнительных целевых исследований (табл. 2).

Проведенные исследования выявили патологические изменения в кишечной микробиоте детей с ФД, характеризующиеся угнетением основного представителя индигенной микробиоты, бифидобактерий и пролиферацией оппортунистических микроорганизмов. Дефицит бифидобактерий выявлялся также у здоровых детей контрольной группы, но значительно реже ( $p \leq 0,05$ ). Снижение популяционной плотности бифидобактерий у детей с ФД более выражено, чем у здоровых (7,52±1,19 и 8,2±0,12 КОЕ/г соответственно). Отсутствие статистически достоверного различия между этими показателями объясняется ранее выявленным фактом снижения количественного содержания бифидобактерий в кишечнике у здоровых детей на региональном уровне. Учитывая неспецифичность дисбиотических изменений в кишечной микробиоте, необходимо провести более глубокое изучение структуры микробиоценоза кишечника, а именно на уровне видовых различий и ассоциативного потенциала бифидобактерий. Выявленные особенности видового спектра бифидобактерий при ФД – снижение частоты регистрации *B. catenulatum*, появление редких видов (*B. dentium* и *B. angulatum*) отмечены другими исследователями при воспалительных заболеваниях кишечника и целиакии [4]. Уменьшение частоты встречаемости *B. longum* в группе детей с ФД, хотя и не носит статистически достоверный характер, но заслуживает самого пристального внимания, поскольку, во-первых, это явление отмечали при воспалительных заболева-

Таблица 2

**Характеристика склонности видов бифидобактерий к совместному обитанию в кишечной микробиоте детей**

Видовые ассоциации бифидобактерий	Здоровые дети (n = 31)			Дети с ФД (n = 73)		
	P	C	склонность к совместному обитанию	P	C	склонность к совместному обитанию
<i>B. catenulatum</i> + <i>B. longum</i>	16	16	Нет	31,12	31	Нет
<i>B. bifidum</i> + <i>B. longum</i>	5,33	6	Да	25,40	22	Нет
<i>B. bifidum</i> + <i>B. catenulatum</i>	7	7	Нет	26,48	29	Да
<i>B. bifidum</i> + <i>B. adolescentis</i>	< 3,33	5	Да	< 14,59	23	Да

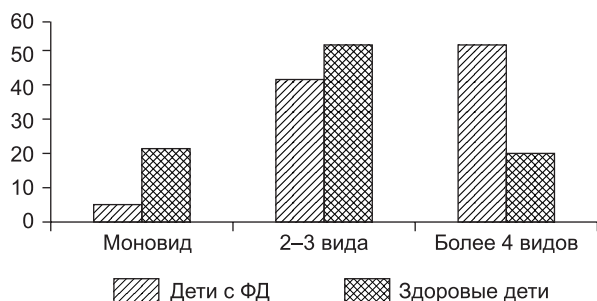


Рис. 2. Видовая композиционность (видовая насыщенность) бифидобактерий в кишечной микробиоте детей с ФД по сравнению со здоровыми (в %).

ниях кишечника, во-вторых, именно у детей с ФД *B. longum* не толерантен к другим видам бифидобактерий в рамках персистирующих ассоциаций. Возможно, это препятствует его эффективному вегетированию в кишечнике, и дефицит *B. longum* наряду с *B. catenulatum* может быть дополнительным маркером микробиологического неблагополучия. Обращает на себя внимание высокий уровень детекции *B. dentium* (16,4±4,3%). По данным ряда авторов, *B. dentium* является единственным оппортунистическим микроорганизмом рода *Bifidobacterium*, обнаружен в высоких титрах в дентине кариозных поврежденных у детей. Этот вид обладает более высокой, чем у других бифидобактерий, ферментативной и адгезивной активностью, что способствует выживанию его в полости рта.

Частота встречаемости многочисленных видовых ассоциаций бифидобактерий в кишечной микробиоте детей с ФД достоверно ниже, чем у здоровых ( $p = 0,01$ ). Известно, что чем разнообразнее видовой состав, тем стабильнее микробиосистема, ее способность к поддержанию гомеостаза и эффективному противостоянию болезни. Понимание связи разнообразия и сложности микробных сообществ со здоровьем человека – основная задача молекулярной экологии [14]. Ограниченное количество видов в рамках кишечного биоценоза связано с нестабильностью в экосистеме и подразумевает предрасположенность к изменению состава микробиоты под влиянием внешних воздействий. Нестабильность микробиосистемы способствует риску возникновения воспалительных заболеваний кишечника [15]. Анализ межвидовых коммуникаций показал особенности взаимодействия бифидобактерий у детей с ФД: *B. bifidum* склонен к совместному вегетированию с *B. catenulatum* и *B. adolescentis*, но находится в антагонистических отношениях с *B. longum*. Представленные материалы дают основание полагать, что при оценке основных параметров микробиоценоза необходимо учитывать видовую композицию бифидобактерий, их ассоциативный потенциал и видовую приоритетность в составе ассоциаций для определения статуса нормы и патологии и выбора перспективных путей коррекции патогенозов. Недостаточная эффективность пробиотикотерапии, возможно, связана со слабой осведомленностью об истинном видовом составе доминирующих микроорганизмов кишечника – бифидобактерий. Изучение и анализ видового профиля бифидобактерий у детей с ФД, нуждающихся в коррекции дисбиотических состояний, приобретает особое значение.

**Заключение.** Анализ видового спектра бифидобактерий дает дополнительную информацию для оценки микробиологического статуса кишечника при функциональных диспепсиях у детей, может служить прогностическим критерием течения заболевания и в то же время делает возможным конструирование пробиотических консорциумов в соответствии с характеристикой видового профиля бифидобактерий. Информативность, простота сбора материала, способность быстро реагировать на изменение гомеостаза, неинвазивность методов исследования являются ключевыми особенностями микробиоты, что делает ее перспективным кандидатом для ранней диагностики заболеваний.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Clemente J.C. et al. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*. 2012; 148 (6): 1258–70.
- Damman C.J. et al. The Microbiome and Inflammatory Bowel Disease: Is There a Therapeutic Role for Fecal Microbiota Transplantation? *The American Journal of Gastroenterology*. 2012; 107 (10): 1452–9.
- Копейкин В. Н., Шабунина Е. И., Сазонова Н. Е. и др. Функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта у детей (диагностика, лечебная тактика): Пособие для врачей. Нижний Новгород; 2005.
- Collado et al. Imbalances in faecal and duodenal Bifidobacterium species composition in active and non-active coeliac disease. *BMC Microbiol*. 2008; 8: 232.
- Ouweland A.C., Isolauri E., He F., Hashimoto H., Benno Y., Salminen S. Differences in Bifidobacterium flora composition in allergic and healthy infants. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 108–44.
- Hedmark H.I. *Development of Bifidobacterium spp. in infants*. Master's Thesis in Applied Biotechnology. 2011.
- Young S.L., Simon M.A., Baird M.A., Tannock G.W., Bibiloni R., Spencely K. et al. Bifidobacterial species differentially affect expression of cell surface markers and cytokines of dendritic cells harvested. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004; 11 (4): 686–90.
- Ракова Е.Б. *Современная структура кишечного микробиоценоза у детского населения Иркутской области: Дисс. ... канд. биол. наук.* Иркутск; 2010.
- Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника. Информационное письмо. СПб.; 2002.
- Отраслевой Стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». ОСТ 91500.11.0004-2003. Приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003: 70. М.; 2003.
- Matsuki T, Watanabe K., Fujimoto J. et al. Quantitative PCR with 16S rRNA-Gene-Targeted Species-Specific Primers for Analysis of Human Intestinal Bifidobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70 (1): 167–73.
- Немченко У.М., Попкова С.М., Джиоев Ю.П., Ракова Е.Б., Савельяева М.В. Видовое разнообразие бифидобактерий у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2012; 2 (84): ч. 1: 50–4.
- Turroni F. et al. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS One*. 2012; 5 (7): e36957.
- Paliy O. The Golden Age of Molecular Ecology. *J. Phylogen. Evolution. Biol.* 2013; 1: 105.
- Wu G.D. et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011; 6052 (334): 105–8.

#### REFERENCES

- Clemente J.C. et al. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*. 2012; 148 (6): 1258–70.
- Damman C.J. et al. The Microbiome and Inflammatory Bowel Disease: Is There a Therapeutic Role for Fecal Microbiota Transplantation? *The American Journal of Gastroenterology*. 2012; 107 (10): 1452–9.
- Kopeykin V.N., Shabunina E.I., Sazonova N.E. et al. Functional disorders of the gastrointestinal tract in children (diagnostics, medical tactic): Posobie dlya vrachey. Nizhniy Novgorod: 2005. (in Russian)
- Collado et al. Imbalances in faecal and duodenal Bifidobacterium species composition in active and non-active coeliac disease. *BMC Microbiol*. 2008; 8: 232.
- Ouweland A.C., Isolauri E., He F., Hashimoto H., Benno Y., Salminen S. Differences in Bifidobacterium flora composition in allergic and healthy infants. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 108–44.
- Hedmark H.I. *Development of Bifidobacterium spp. in infants*. Master's Thesis in Applied Biotechnology. 2011.
- Young S.L., Simon M.A., Baird M.A., Tannock G.W., Bibiloni R., Spencely K. et al. Bifidobacterial species differentially affect expression of cell surface markers and cytokines of dendritic cells harvested. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004; 11 (4): 686–90.
- Rakova E.B. *The modern structure of intestinal microbiota in the pediatric population of Irkutsk region: Diss. Irkutsk; 2010. (in Russian)*
- Improvement of diagnostic methods dysbiosis colon. *Informatsionnoe pis'mo*. St. Petersburg; 2002. (in Russian)
- Industry Standard «Treatment Protocol. Intestinal dysbiosis». OST 91500.11.0004-2003. Prikaz MZ RF № 231 ot 09.06.2003: 70. (in Russian)
- Matsuki T, Watanabe K., Fujimoto J. et al. Quantitative PCR with 16S rRNA-Gene-Targeted Species-Specific Primers for Analysis of Human Intestinal Bifidobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004; 70 (1): 167–73.
- Nemchenko U.M., Popkova S.M., Dzhioev Yu.P., Rakova E.B., Savel'kaeva M.V. Species diversity of bifidobacteria in children with functional disorders of the gastrointestinal tract. *Byulleten' VSNC SO RAMN*. 2012; 2 (84): ch. 1: 50–4. (in Russian)
- Turroni F. et al. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS One*. 2012; 5 (7): e36957.
- Paliy O. The Golden Age of Molecular Ecology. *J. Phylogen. Evolution. Biol.* 2013; 1: 105.
- Wu G.D. et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011; 6052 (334): 105–8.

Поступила 01.12.14  
Received 01.12.14