

- Russian national priorities. Special Issue on "Actual problems of the natural foci of diseases: Materialy Vserossiiskoi konferentsii with international participation marking the 70th anniversary of theory of natural foci of diseases by acad. E.N. Pavlovskii. 2009; 2: 192–7. (in Russian)
4. Methodical recommendations. Epidemiological surveillance of tick-borne rickettsiosis, immunodiagnosis of the disease and methods of detection the pathogen. Omsk: Minzdrav SSSR, 1992. (in Russian)
 5. Guidelines MU 3.1.1755-03. Organization epidemiological surveillance of tick-borne rickettsiosis. Moscow: Russian Federal Centre for Sanitary Inspection, 2004. (in Russian)
 6. Brouqui P., Bacellar F., Baranton G., Birtles R.J., Bjoersdorff A., Blanco J.R. et al. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10: 1108-32.
 7. Analysis of the activities the Sanitary Inspection centers of the Russian Federation for the laboratory diagnosis of rickettsial diseases. *Information Bulletin and statistical analysis.* Moscow; 2001. (in Russian)
 8. Abramova N.V., Rudakov N.V., Pen'evskaja N.A., Sedyh N.N., Kumpan L.V., Samoilenko I.E. et al. The testing of immunoassay for serological diagnosis of infections caused by spotted fever group rickettsiae. *Epidemiologiya i vactsinoprofilaktika.* 2010; 1(50): 17–22. (in Russian)
 9. Rudakov N.V., Abramova N.V., Pen'evskaja N.A., Samoilenko I.E., Shpynov S.N., Reshetnikova T.A. The method of laboratory diagnosis of tick-borne rickettsiosis using an enzyme immunoassay for the detection of antibodies to the antigen of *Rickettsia sibirica*. Patent RF N 2477860; 2013. (in Russian)
 10. Rudakova S.A., Kolomeetz A.N., Samoilenko I.E., Kuz'minov A.M., Rudakov N.V. Express indication of transmissible pathogens as the basis of the differentiated approach to the prevention of infections transmitted by Ixodes ticks. *Bulleten' SO RAMN.* 2007; 4: 116-9. (in Russian)

Поступила 10.06.14
Received 10.06.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 579.842.11:579.252].083.1

Иванова Е.И.¹, Попкова С.М.¹, Джиоев Ю.П.^{1,2}, Ракова Е.Б.¹, Долгих В.В.¹, Савелькаева М.В.¹, Немченко У.М.¹, Бухарова Е.В.¹, Сердюк Л.В.¹

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ СПОСОБНОСТЬ К ФОРМИРОВАНИЮ СВЯЗЫВАНИЯ ПИЛЕЙ У АУТОШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*

¹ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, 664003, Иркутск; ²ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет», 664003, Иркутск

E.coli – комменсал кишечника позвоночных. Обмен генетическим материалом разных типов бактерий между собой и с другими представителями семейства Enterobacteriaceae в кишечной экосистеме ведет к появлению вариантов нормальной кишечной палочки с генетическими признаками патогенности, что может служить теоретическим обоснованием для отнесения таких штаммов к патобионтам. Энтеропатогенная кишечная палочка (ЕПЕС) продолжает оставаться важной причиной диарей у детей в развивающихся странах. Ген, отвечающий за формирование связывания пилей, является необходимым условием для вирулентности ЕПЕС. С помощью ПЦР исследовали 316 штаммов разных типов *E.coli* (нормальная, со слабой ферментативной активностью, гемолитической активностью), выделенных у здоровых детей и детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта, на наличие генов, кодирующих способность к формированию связывания пилей (*bfp*). Присутствие гена *bfp* в разных биохимических вариантах *E.coli* позволяет констатировать факт формирования резервуара патогенности в индигенной микробиоте кишечника биоценоза.

Ключевые слова: микробиоценоз; адгезия; *Escherichia coli*; ген, отвечающий за формирование связывания пилей (*bfp*).

Ivanova E.I.¹, Popkova S.M.¹, Djiioev Yu.P.^{1,2}, Rakova E.B.¹, Dolgikh V.V.¹, Savelkaeva M.V.¹, Nemtchenko U.M.¹, Bukharova E.V.¹, Serdiuk L.V.¹

THE DETECTION OF OCCURRENCE RATE OF GENES CODING CAPABILITY TO FORM PILI BINDING IN AUTO-STRAINS OF *ESCHERICHIA COLI*

¹The research center of problems of family health and human reproduction, 664003 Irkutsk, Russia; ²The Irkutsk state medical university, 664003 Irkutsk, Russia

E.coli is a commensal of intestine of the vertebrata. The exchange of genetic material of different types of bacteria between themselves and with other representatives of family of Enterobacteriaceae in intestinal ecosystem results in development of types of normal colibacillus with genetic characteristics of pathogenicity that can serve as a theoretical substantiation to attribute such strains to pathobionts. The entero-pathogenic colibacillus continues be an important cause of diarrhea in children in developing countries. The gene responsible for formation of pili binding is a necessary condition for virulence of entero-pathogenic colibacillus. The polymerase chain reaction was applied to examine 316 strains of different types of *E.coli* (normal, with weak enzyme activity and hemolytic activity) isolated from healthy children and children with functional disorders of gastro-intestinal tract for presence of genes coding capability to form pili binding. The presence of this gene in different biochemical types of *E.coli* permits to establish the fact of formation of reservoir of pathogenicity in indigent microbiota of intestinal biocenosis.

Key words: microbiocenosis; adhesion; *Escherichia coli*; gene coding capability to form pili binding

Для корреспонденции:

Иванова Елена Иннокентьевна, мл. науч. сотр.
Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, 16
E-mail: ivanova.iem@gmail.com

Введение. Международные исследования микробиома человека, проекты глобального масштаба последнего десятилетия (Human Microbiome Project и Meta-HIT project), позволили пролить свет на огромную роль микробиоты человека в сохранении физиологического здоровья и тесной взаимосвязи его дисбиотических состояний со множеством заболеваний организма [1, 2]. В микробиоме человека наиболее представительна микробиота желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), в структуре патологии которого значительное место в детском возрасте занимают функциональные нарушения [3, 4]. В нормальных физиологических условиях организм и его микробиота представляют собой сложный, многофункциональный, динамический, равноправный симбиоз (эубиоз) [5, 6]. При превышении пороговой величины отрицательно воздействующих на организм экзогенных и эндогенных факторов микробиоценозы выходят из состояния равновесия, что проявляется не только микрoэкологическими, или иммунными нарушениями, но и огромным спектром заболеваний, сопряженных с нарушением микрoэкологического гомеостаза [7]. Любые нарушения приводят к доминированию в биотопе потенциально опасных микроорганизмов, усилению генетического обмена и формированию клонов, несущих геномные “острова” патогенности. Избыточное заселение при дисбиозах биотопов человека полирезистентными, высоковирулентными штаммами условно-патогенной биоты таит в себе опасность повреждения нормальной биоценозы и замены ее на “дефектную” биологическую структуру, отличающуюся патологической концентрацией внедрившихся в нее дисбиотических микроорганизмов [8].

Escherichia coli, являясь постоянным обитателем кишечника человека, входит в состав его микробиоценоза. В норме кишечная палочка выполняет ряд полезных для хозяина функций – синтезирует витамины и аминокислоты, поддерживает колонизационную резистентность кишечника, обеспечивает антигенную стимуляцию местного иммунитета. При нарушениях микрoэкологического статуса *E.coli* способна резко наращивать не только свое количественное присутствие, но и проявлять патогенные свойства, что играет важную роль в патогенезе развития дисбиоза кишечника. Постоянный антигенный дрейф, наличие или приобретение различных факторов патогенности (токсины, гемолизины, некротизирующий и гемолитический факторы, сидерофоры) затрудняют проведение эффективной специфической профилактики эшерихиоза, что побуждает не только постоянно осуществлять мониторинг данной инфекции, но также изучать и контролировать биологические свойства возбудителя (прежде всего его антибиотикорезистентность и наличие различных маркеров патогенности) [9]. Наличие подобных свойств повышает патогенный потенциал микробов, придавая им высокую экологическую пластичность и способность активно участвовать в воспалительном процессе [10]. В конечном итоге характер формирующегося патологического процесса и клинические проявления заболевания непосредственно будут зависеть от тех факторов патогенности, которые экспрессирует возбудитель [11].

Энтеропатогенные *E.coli* синтезируют пилы, формирующие пучок, обозначенные как *bfp* (*Bundle forming pili*, англ.), которым приписывается значимая роль в первичном прикреплении эшерихий к эпителиоцитам кишечника. Ген, кодирующий формирование связывания пилей (расшифровка английского термина *bfp*), продукты экспрессии которого найдены на поверхности энтеропатогенных кишечных палочек (ЕРЕС), играет важную роль в обеспечении вирулентных свойств штаммов типичных ЕРЕС. Ген *bfp* отвечает также за формирование связей пилей между бактериями, что ведет к образованию бактериальных агрегаций (микрoколоний) [12, 13].

Цель работы – определение частоты встречаемости гена, кодирующего формирование связывания пилей (*bfp*), в геноме разных фенотипических вариантов индигенной *E.coli*, выделенных у детей с функциональными нарушениями (ФН) ЖКТ.

Материалы и методы. Проведено бактериологическое исследование копромагмата у 225 детей

(от рождения до 15 лет) с ФН ЖКТ (абдоминальный синдром, расстройство дефекации, расстройство билиарного тракта, функциональные запоры, колики в течение не менее 12 нед за последние 12 мес). В группу сравнения входили здоровые дети аналогичного возраста ($n = 100$). Факторами исключения из исследования были хронические заболевания, в том числе ЖКТ, прием антибактериальных и пробиотических препаратов в предшествующие до обследования 3 мес. Выполненная работа не ущемляла права и не подвергала опасности благополучие субъектов исследования, осуществлена с информированного согласия пациентов согласно Приказу Минздрава РФ № 266 от 19.06.03, соответствует этическим нормам Хельсинкской декларации (2000 г.).

Исследование микробного пейзажа толстой кишки проводили в соответствии с [14, 15]. Степень нарушения микроценоза толстой кишки оценивали согласно ОСТ [16]. Для исследования выделены разные типы *E.coli* как от здоровых детей, так и от детей с ФН ЖКТ, с нормальной ферментативной активностью (соответственно 20 и 202 аутоштаммов), со слабой ферментативной активностью (10 и 60 аутоштаммов) и с гемолитической активностью (24 аутоштамма от детей с ФН ЖКТ). По культурально-ферментативным свойствам и антигенным характеристикам исследуемые штаммы *E.coli* являлись типичными представителями индигенной микрофлоры рода *Escherichia*. Всего исследовано 316 культур *E.coli*.

Выделение бактериальной ДНК, амплификацию, электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов осуществляли по ранее описанным методикам [17]. Штаммы *E.coli* подвергались генетическому исследованию методом ПЦР на наличие/отсутствии гена, кодирующего способность к формированию связывания пилей (*bfp*). Реакции амплификации проводили с применением следующих праймеров и условий реакции (см. таблицу) [18].

Детекцию гена осуществляли в соответствии с протоколом амплификации, разработанной авторами: 1) первоначальная денатурация 94°C в течение 2 мин; 2) 29 циклов: 94°C в течение 30 с, 56°C – 1 мин, 72°C – 2 мин; 3) финальная элонгация 72°C – 3 мин; 4) охлаждение до 4°C.

Для выявления долевого участия разных видов микроорганизмов в структуре биоценоза использовали показатель постоянства (c), определяемый по формуле $c = (p/P) \cdot 100\%$, где p – число наблюдений, содержащих изучаемый вид; P – общее число наблюдений. При $c > 50\%$ вид относится к разряду постоянных, при $c = 25-50\%$ – к добавочным, при $c < 25\%$ – к случайным [19].

Статистическая обработка данных произведена с помощью прикладных программ MS Excel for Windows методом вариационной статистики с использованием t -критерия Стьюдента при критическом значении уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. По результатам бактериологических исследований копрологических проб почти у всех детей с ФН ЖКТ диагностированы нарушения состава нормальной микробиоты толстой кишки различной степени выраженности. Дисбаланс облигатной микробиоты в основном характеризовался снижением популяционной плотности на 1–3 порядка от физиологической нормы представителей индигенных бактерий у большей части обследованных ($73,3 \pm 2,9\%$). Дефицит бифидобактерий зарегистрирован у половины детей ($55,5 \pm 3,3\%$), а дефицит лактобацилл – только у $1,3 \pm 0,7\%$. У 40 ($16,4 \pm 2,4\%$) детей определялся дефицит *E.coli* с нормальными ферментативными свойствами. На фоне определенного дисбаланса индигенной микрофлоры в микрoэкологической

Используемые праймеры и соответствующие им температуры отжига [18]

PCR-мишень	Праймер	Нуклеотидная последовательность праймера (5'-3')	Размер ампликона, п.н.	Tm, °C
bfp	EP1	AATGGTGTCTTGGCTTGCTGC	326	56
	EP2	GCCGCTTTATCCAACCTGGTA		

системе кишечника детей отмечалась вегетация различных представителей условно-патогенных микроорганизмов в диагностически значимой концентрации ($5 - 7 \text{ lg КОЕ/г}$).

В целом иерархия бактериального сообщества в изучаемой группе была четко выражена. Спектр кишечной микробиоты обследованных детей представлен различными видами микроорганизмов с показателем постоянства (c): для *Enterococcus spp.* – 71,6% (средний уровень популяционной плотности $\text{lg } 6,8 \pm 0,5 \text{ КОЕ/г}$), *Klebsiella spp.* – 37,3% ($\text{lg } 6,0 \pm 1,0 \text{ КОЕ/г}$), *E. coli* со слабой ферментативной активностью – 27,1% ($\text{lg } 7,2 \pm 0,6 \text{ КОЕ/г}$), *Staphylococcus spp.* – 24,5% ($\text{lg } 4,8 \pm 0,6 \text{ КОЕ/г}$), *Clostridium spp.* – 17,3% ($\text{lg } 4,6 \pm 1,4 \text{ КОЕ/г}$), *Candida spp.* – 15,1% ($\text{lg } 4,7 \pm 0,7 \text{ КОЕ/г}$), *E. coli* с гемолитической активностью – 11,6% ($\text{lg } 7,3 \pm 0,6 \text{ КОЕ/г}$), *Enterobacter spp.* – 9,7% ($\text{lg } 5,6 \pm 0,9 \text{ КОЕ/г}$), *Citrobacter spp.* – 4,4% ($\text{lg } 5,6 \pm 0,8 \text{ КОЕ/г}$), *Pseudomonas spp.* – 3,1% ($\text{lg } 5,1 \pm 1,1 \text{ КОЕ/г}$) и *Proteus spp.* – 1,8% ($\text{lg } 6,7 \pm 0,5 \text{ КОЕ/г}$). У детей с ФН ЖКТ отмечается наиболее значимая роль энтерококков в составе микробиоценоза ($c = 71,4\%$) по сравнению с другими видами микроорганизмов, которые в большинстве случаев попадают в категорию случайных видов ($c = 18,6-2,0\%$), за исключением *Klebsiella spp.*, *E. coli* со слабой ферментативной активностью и *Staphylococcus spp.*, попадающих в группу добавочных видов.

В группе здоровых микробный спектр копропроб также характеризовался доминирующим положением анаэробных микроорганизмов (бифидобактерий и лактобацилл), из аэробных выделялась нормальная кишечная палочка (в 100% случаев). Отличительной особенностью микробиологического статуса кишечного биоценоза детей с ФН ЖКТ является значительно большее, чем у здоровых детей, распространение энтерококков (71,6 и 13,0% соответственно), что может быть риском для появления штаммов с наличием ряда факторов патогенности, вызывающих инфекционные процессы.

Частота встречаемости гена *bfp* была высокой как среди разных биохимических вариантов *E. coli*, так и в разных возрастных группах детей. В общем пуле исследуемых штаммов эшерихий, выделенных у детей с ФН ЖКТ, частота встречаемости гена *bfp* была очень высокая ($90,9 \pm 1,7\%$), незначительно различаясь по группам эшерихий с разными фенотипическими вариантами. Среди *E. coli* с нормальной ферментативной активностью ген *bfp* регистрировался в $92,1 \pm 1,9\%$ аутоштаммов, у *E. coli* со слабой ферментативной активностью – в $86,6 \pm 4,3\%$ и у гемолитических *E. coli* – в $91,6 \pm 5,7\%$ случаев. При этом присутствие гена *bfp* в геноме *E. coli* с нормальной ферментативной активностью в условиях ее низкой популяционной плотности в кишечнике детей (на нижнем пределе физиологической нормы – 10^6 КОЕ/мл) было редким – всего 6,4%. В условиях более высокой концентрации типичного фенотипического варианта *E. coli* (на 2–3 порядка выше сравниваемого, 10^7-10^8 КОЕ/мл) *bfp* регистрировался чаще ($36,7-49,0\%$). У детей из группы сравнения ген *bfp* выявлялся в геноме всех штаммов – как у *E. coli* с нормальной ферментативной активностью, так и *E. coli* со слабой ферментативной активностью (100%).

У детей с ФН ЖКТ до года ($n = 85$) *bfp* регистрировался практически по всем аутоштаммам, хотя и незначительно реже (90,6%), чем у детей старше года (94,3%). Наличие данного гена в разных возрастных группах и в разных фенотипических вариантах кишечной палочки регистрировалось практически с одинаковой частотой и не имело статистически значимой разницы. В геноме аутоштаммов *E. coli* с нормальной ферментативной активностью у детей до года и после ген *bfp* определялся в 95,6 и 91,8% соответственно, в геноме *E. coli* со слабой ферментативной активностью – в 81,6 и 86,4%, в геноме аутоштаммов гемолитических *E. coli* – в 87,8 и 94,3% случаев. В исследуемом материале чаще всего этот ген циркулировал среди штаммов *E. coli* с нормальной ферментативной активностью (91,8–95,6%) по сравнению, например, с нетипичными штаммами (81,6–86,4%).

Заключение. Проведенные исследования показали, что практически у всех обследованных детей выявлялись от-

клонения в составе микроорганизмов кишечной микробиоты относительно общепризнанных нормативов (ОСТ, 2003). Процессы колонизации условно-патогенными микроорганизмами происходят на фоне резкого угнетения нормальных симбионтов, обеспечивающих колонизационную резистентность. Это является логичным явлением, так как бифидофлора не только осуществляет поддержание микробиологического гомеостаза за счет эволюционно сложившихся симбиотических взаимодействий с организмом хозяина, но и контролирует включение в микробиоценоз условно-патогенных бактерий-ассоциантов за счет препятствия их адгезии, антагонистического действия и подавления персистентных свойств аллохтонной микробиоты.

Обращает на себя внимание высокая распространенность энтерококков (около 70%) среди детей с ФН ЖКТ по сравнению со здоровыми (13,3%). Это обстоятельство предполагает, что у детей с ФН ЖКТ эти микроорганизмы приобрели статус доминирующих. Учитывая неоднозначную роль энтерококков в микробиологии человека (обеспечение колонизационной резистентности слизистых в норме и в то же время усиление в последние десятилетия их роли в возникновении нозокомиальных инфекций), можно полагать, что увеличение частоты регистрации их у детей с ослабленной иммунорезистентностью свидетельствует о высоком риске появления штаммов с наличием ряда факторов патогенности, вызывающих инфекционные процессы [20, 21].

Установлено, что патогенные для человека *Escherichia coli* отличаются от представителей нормальной микробиоты кишечника наличием генов патогенности, которые определяют особенности патогенеза и клинические проявления заболевания. Выявление гена патогенности *bfp*, наличие которого характерно для диареогенных эшерихий, должно настораживать в отношении потенциального риска развития воспалительных процессов в кишечнике. Результаты продемонстрировали высокую частоту присутствия данного гена в популяциях различных биохимических вариантов, в том числе *E. coli* с нормальной ферментативной активностью, что свидетельствует об эффективных процессах адгезии *E. coli* к эпителию кишечника. Это, с одной стороны, дает ей огромные преимущества в конкурентной борьбе с условно-патогенной микробиотой за сайты адгезии и занятия экологической ниши, а с другой – позволяет типичной *E. coli* сохранять в кишечнике физиологически высокую популяционную плотность, осуществляя выполнение полезных для хозяина функций (синтез витаминов и аминокислот, поддержание колонизационной резистентности кишечника, обеспечение антигенной стимуляции местного иммунитета и др.). Это подтверждают данные о высоком уровне детекции гена *bfp* в геноме кишечных палочек у здоровых детей. Высокая частота присутствия гена *bfp* в геномах атипичных *E. coli* является настораживающим фактором, так как на фоне дефицита бифидо- и лактобактерий, свидетельствующего о начинающихся дисбиотических нарушениях, вегетация таких микроорганизмов может способствовать усугублению патологического процесса.

Обнаружение генетических детерминант *bfp* позволяет обсуждать вопрос о потенциальной патогенности данных аутоштаммов *E. coli* и участии их в усилении функциональных нарушений ЖКТ, прогнозировать появление штаммов с новыми свойствами. Все это свидетельствует о важности проведения дифференциальной молекулярно-генетической диагностики штаммов *E. coli* даже при отсутствии явных микробиологических нарушений в биоценозе, но с проявлениями функциональных нарушений ЖКТ у детей, особенно раннего возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Qin J., Li R., Raes J., Arumugam M., Burgdorf K.S., Manichanh C. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010; 464 (7285): 59–65.
2. Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Paslier D.Le, Yamada T. et al.

- Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473 (7346): 174–80.
3. Попкова С.М., Савченков М.Ф. Микроэкология человека и здоровье семьи. *Международный журнал экспериментального образования*. 2010; 12: 28–30.
 4. Tyler A.D., Knox N., Kabakchiev B., Milgrom R., Kirsch R., Cohen Z. et al. Characterization of the gut-associated microbiome in inflammatory pouch complications following ileal pouch-anal anastomosis. *PLoS ONE*. 2013; 8 (9). Available at: <http://www.plosone.org>.
 5. Войда Ю.В., Солонина Н.Л. Микроэкология человека и роль пробиотических препаратов в терапии гнойно-воспалительных заболеваний в акушерстве и гинекологии. *Анналы Мечниковского института*. 2012; 2: 27–37.
 6. Ефимов Б.А., Кафарская Л.И., Коршунов В.М. Современные методы оценки качественных и количественных показателей микрофлоры кишечника и влагалища. *Журнал микробиологии*. 2002; 4: 72–8.
 7. Abbasian F., Saberbaghi T. Metagenomic study of human gastrointestinal tracts in health and diseases. *J. Gastroenter. Hepatol. Res*. 2013; 2 (12): 885–96.
 8. Янковский Д.С., Моисеенко Р.А., Дымент Г.С. Место дисбиоза в патологии человека. *Современная педиатрия*. 2010; 1 (29): 154–67.
 9. Лайман Е.Ф., Шаркова В.А., Мазур М.Е., Просьянникова М.Н. Молекулярно-генетическая характеристика факторов патогенности *E.coli*, выделенных из операционных ран различных классов. *Международный журнал экспериментального образования*. 2012; 5: 84–5.
 10. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Симбиотические взаимоотношения человека и микроорганизмов. *Ж. Физиология человека*. 2012; 1 (38): 108–15.
 11. Малов В.А., Горобченко А.Н. Острые инфекционные диарейные заболевания. *Лечащий Врач*. 2005; 2: 6–8.
 12. Ramboarina S., Fernandes P.J., Daniell S., Islam S., Simpson P., Frankel G. et al. Structure of the bundle-forming pilus from Enteropathogenic *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem*. 2005; 280 (48): 40252–60.
 13. Saldana Z., Erdem A.L., Schüller S., Okeke I.N., Lucas M., Sivananthan A. et al. The *Escherichia coli* common pilus and the bundle-forming pilus acin concert during the formation of localized adherence by Enteropathogenic *E. coli*. *J. Bacteriol*. 2009; 191 (11): 3451–61.
 14. Немченко У.М., Попкова С.М., Горбунова Е.Л., Петрова И.В., Ракова Е.Б., Иванова Е.И. и др. Микроэкологический пейзаж кишечного биоценоза у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2011; 5 (81): 89–93.
 15. Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. *Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника*. Moscow, 1986.
 16. *Отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004-2003. «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»*. Утв. 09.06.03.
 17. Иванова Е.И., Попкова С.М., Джиоев Ю.П., Ракова Е.Б. Выявление генов патогенности, кодирующих способность к токсинообразованию, у штаммов *Escherichia coli*, выделенных из кишечного биотопа детей. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2013; 2 (90). Ч 2: 111–4.
 18. Gunzburg S.T., Tornieporth N.G., Riley L.W. Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR-based detection of the bundle-forming pilus gene. *J. Clin. Microbiol*. 1995; 5 (33): 1375–7.
 19. Захарова Е.А., Азизов И.С. Микроэкологическая характеристика кишечного микробиоценоза часто болеющих детей. *Журнал микробиологии*. 2012; 2: 63–8.
 20. Попкова С.М., Волокитина А.С., Джиоев Ю.П., Медведева П.А., Козлова Л.С., Немченко У.М. и др. Ассоциации видов и генов патогенности бактерий рода *Enterococcus*, выделенных из разных биотопов у жителей г. Иркутска. *Известия Иркутск. гос. унив-та. Серия «Биология. Экология»*. 2011; 1 (9). Т.4; 14–25.
 21. Габриелян И.Н., Горская Е.М., Спирина Т.С., Преображенская Т.Б. Энтерококки как возбудители инфекционных послеоперационных осложнений. *Журнал микробиологии*. 2007; 4: 50–3.
 2. Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Paslier D.Le, Yamada T. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473 (7346): 174–80.
 3. Popkova S.M., Savchenkov M.F. Microecology person and family health. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental' nogo obrazovaniya*. 2010; 12: 28–30. (in Russian)
 4. Tyler A.D., Knox N., Kabakchiev B., Milgrom R., Kirsch R., Cohen Z. et al. Characterization of the gut-associated microbiome in inflammatory pouch complications following ileal pouch-anal anastomosis. *PLoS ONE*. 2013; 8 (9). Available at: <http://www.plosone.org>.
 5. Voyda Yu.V., Solonina N.L. Microecology rights and the role of probiotics in the treatment of inflammatory diseases in obstetrics and gynecology. *Annaly Mechnikovskogo instituta*. 2012; 2: 27–37. (in Russian)
 6. Efimov B.A., Kafarskaya L.I., Korshunov V.M. Modern methods of evaluation of qualitative and quantitative indicators of intestinal microflora and vagina. *Zhurnal mikrobiologii*. 2002, 4: 72–8. (in Russian)
 7. Abbasian F., Saberbaghi T. Metagenomic study of human gastrointestinal tracts in health and diseases. *J. Gastroenterol. Hepatol. Res*. 2013; 2 (12): 885–96.
 8. Yankovskiy D.S., Moiseenko R.A., Dyment G.S. Place dysbiosis in human pathology. *Sovremennaya pediatriya*. 2010; 1 (29): 154–67. (in Russian)
 9. Layman E.F., Sharkova V.A., Mazur M.E., Prosyannikova M.N. Molecular genetic characterization of pathogenicity factors *E.coli*, isolated from surgical wounds of various classes. *Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental' nogo obrazovaniya*. 2012; 5: 84–5. (in Russian)
 10. Bukharin O.V., Perunova N.B. Symbiotic relationship between humans and microorganisms. *Zh. Fiziologiya cheloveka*. 2. 2012; 1 (38): 108–15. (in Russian)
 11. Malov V.A., Gorobchenko A.N. Acute infectious diarrheal diseases. *Lechashchiy Vrach*. 2005; 2: 6–8. (in Russian)
 12. Ramboarina S., Fernandes P.J., Daniell S., Islam S., Simpson P., Frankel G. et al. Structure of the bundle-forming pilus from Enteropathogenic *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem*. 2005; 280 (48): 40252–60.
 13. Saldana Z., Erdem A.L., Schüller S., Okeke I.N., Lucas M., Sivananthan A. et al. The *Escherichia coli* common pilus and the bundle-forming pilus acin concert during the formation of localized adherence by Enteropathogenic *E. coli*. *J. Bacteriol*. 2009; 191 (11): 3451–61.
 14. Nemchenko U.M., Popkova S.M., Gorbunova E.L., Petrova I.V., Rakova E.B., Ivanova E.I. et al. Microecological landscape intestinal biocenosis in children with functional disorders of the gastrointestinal tract. *Byulleten' VSNTs SO RAMN*. 2011; 5 (81): 89–93. (in Russian)
 15. The use of bacterial biological drugs in the practice of treatment of patients with intestinal infections. *Diagnostics and treatment of the intestinal dysbacteriosis*. Moscow, 1986. (in Russian)
 16. *The branch standard OST 91500.11.0004-2003. "Protocol for the management of patients. Dysbacteriosis of the intestine"*. Appr. 09.06.03. (in Russian)
 17. Ivanova E.I., Popkova S.M., Dzhioev Yu.P., Rakova E.B. Identification of pathogenicity genes encoding ability to toxigenesis in *Escherichia coli* isolated from the children intestinal biotope. *Byulleten' VSNTs SO RAMN*. 2013; 2 (90). Ch 2: 111–4. (in Russian)
 18. Gunzburg S.T., Tornieporth N.G., Riley L.W. Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR-based detection of the bundle-forming pilus gene. *J. Clin. Microbiol*. 1995; 5 (33): 1375–7.
 19. Zakharova E.A., Azizov I.S. Microecological characteristics of intestinal microbiocenosis of sickly children. *Zhurnal mikrobiologii*. 2012; 2: 63–8. (in Russian)
 20. Popkova S.M., Volokitina A.S., Dzhioev Yu.P., Medvedeva P.A., Kozlova L.S., Nemchenko U.M. et al. Association of species and genes pathogenic bacteria of the genus *Enterococcus*, selected from different habitats of the residents of Irkutsk. *Izvestiya Irkutsk. gos. univ-ta. Seriya "Biologiya. Ekologiya"*. 2011; 1 (9). Т.4; 14–25. (in Russian)
 21. Gabrielyan I.N., Gorskaya E.M., Spirina T.S., Preobrazhenskaya T.B. Enterococcus pathogens of infectious post-operative complications. *Zhurnal mikrobiologii*. 2007; 4: 50-3.

REFERENCES

Поступила 14.05.14
Received 14.05.14