

Mikrobiom jelitowy – współczesne możliwości diagnostyczne i rola w zaburzeniach czynnościowych przewodu pokarmowego

Intestinal microbiome: role in functional gastrointestinal disorders and contemporary diagnostic options

Klinika Alergologii, Gastroenterologii i Żywności Dzieci, Uniwersyteckie Centrum Pediatrii im. M. Konopnickiej, Łódź, Polska
Adres do korespondencji: Marlena Górską, ul. Bartoka 61 m. 113, 92-531 Łódź, tel.: +48 42 617 77 30 (sekretariat Kliniki), e-mail: marlena.gorska.lek@gmail.com

Streszczenie

Do podstawowych problemów, z jakimi najczęściej stykają się w swojej praktyce pediatrzy i gastroenterolodzy dziecięcy, należą zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego. Jest to grupa przewlekłych i/lub nawracających schorzeń wywołanych dowolną kombinacją zaburzeń motoryki i nadwrażliwości trzewnej z nieprawidłowym przetwarzaniem bodźców w ośrodkowym układzie nerwowym, objawiająca się między innymi bólami brzucha, nudnościami i wymiotami bądź zaburzeniami defekacji. Wymienionych symptomów nie można przypisać innemu stanowi klinicznemu, pomimo przeprowadzenia odpowiedniej diagnostyki. Etiologia czynnościowych zaburzeń przewodu pokarmowego jest wieloczynnikowa. W ostatnim czasie bada się rolę patogenetyczną mikrobioty jelitowej jako ważnego czynnika środowiskowego. W artykule omówiono najnowsze dane dotyczące składu mikrobiomu (zespołu genów mikrobioty) przewodu pokarmowego człowieka oraz scharakteryzowano metody wykorzystywane w celu jego szczegółowego określenia. Obecnie największą wartość diagnostyczną mają techniki biologii molekularnej, oparte na sekwencjonowaniu materiału genetycznego, które ze względu na wyjątkową skuteczność wypierają klasyczne badania mikrobiologiczne. Ponadto w publikacji przedstawiono czynniki odgrywające rolę w kształtowaniu składu mikrobiomu przewodu pokarmowego, do których zaliczają się między innymi droga porodu, sposób karmienia w okresie niemowlęcym, dieta w dalszych latach życia, miejsce zamieszkania, aktywność fizyczna czy przyjmowanie antybiotyków. Dotychczasowe badania wykazały, że dysbioza stanowi jeden z czynników patogenetycznych wielu chorób, w tym zespołu jelita drażliwego. Próby modyfikacji składu mikrobiomu, m.in. przez przyjmowanie probiotyków, powinny się więc wiązać z konkretną pomocą dla pacjentów z czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego.

Słowa kluczowe: mikrobiom, dysbioza, bóle brzucha, zespół jelita drażliwego (IBS)

Abstract

The most common problems that paediatricians and paediatric gastroenterologists encounter in their practice include functional gastrointestinal disorders. These are a group of chronic and/or recurrent conditions caused by any combination of gastrointestinal motility disturbances and visceral hypersensitivity with abnormal processing of stimuli in the central nervous system which manifest with abdominal pain, nausea and vomiting or disorders of defecation, among other problems. The symptoms cannot be assigned to any other clinical condition despite proper diagnostic investigation. The aetiology of functional gastrointestinal disorders is multifactorial. Recently, the role of the intestinal microbiota as an important environmental factor in the pathogenesis of such disorders has been investigated. In this article, the latest data regarding the composition of the microbiome (a collection of microbiota genes) of the human gastrointestinal tract are discussed and the methods used to determine it in detail are described. Currently, molecular biology techniques have the highest diagnostic value, which are based on genetic material sequencing. Due to their extraordinary efficacy, they are superseding classic microbiological tests. In addition, the publication presents factors which affect the composition of the gastrointestinal microbiome. These include, for example, mode of birth, method of infant feeding, diet at later stages of life, place of residence, physical activity and antibiotics intake. The research to date demonstrated that dysbiosis is one of the factors contributing to the pathogenesis of many diseases, including irritable bowel syndrome. Attempts at modifying the composition of the microbiome by, for example, the administration of probiotics, should therefore have a distinctly positive effect on patients with functional gastrointestinal disorders.

Keywords: microbiome, dysbiosis, abdominal pain, irritable bowel syndrome (IBS)

WSTĘP

Zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego (CZPP) to grupa przewlekłych i/lub nawracających schorzeń wywołanych dowolną kombinacją zaburzeń motoryki i nadwrażliwości trzewnej z nieprawidłowym przetwarzaniem bodźców w ośrodkowym układzie nerwowym. Uważa się, że na poziomie obwodowym (jelitowym) punktem wyjścia nadreaktywności i nadwrażliwości trzewnej jest nieprawidłowa funkcja błony śluzowej i układu immunologicznego przewodu pokarmowego (*gut-associated lymphoid tissue*, GALT). Do potencjalnych czynników etiologicznych zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego zalicza się infekcje żołądkowo-jelitowe, oddziaływanie różnych śródbrłonkowych czynników drażniących (w tym dietetycznych – alergii, nietolerancje pokarmowe, leki, zanieczyszczenia środowiskowe), zmiany mikrobioty jelitowej, a także uwarunkowania genetyczne. Poprzez aktywację jelitowego układu immunologicznego dochodzi do lokalnego zapalenia błony śluzowej, uwalniania różnych neurotransmiterów i ekspresji klinicznej pod postacią takich objawów, jak bóle brzucha/dyskomfort w jamie brzusznej, nudności/wymioty oraz zaburzenia defekacji. W toku diagnostyki różnicowej nie stwierdza się nieprawidłowości strukturalnych, zapalnych, metabolicznych ani zmian nowotworowych. Wśród potencjalnych czynników etiologicznych zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego szczególne zainteresowanie wzbudza obecnie dysbioza przewodu pokarmowego, czyli zachwianie równowagi jakościowo-ilościowej mikrobioty jelitowej⁽¹⁾.

MIKROBIOTA I MIKROBIOM

Jako mikrobiotę określa się zespół mikroorganizmów (bakterii, grzybów, wirusów i archeonów, czyli jednokomórkowców) zasiedlających dane środowisko. Organizmy te nie są przypadkowo rozproszone, lecz zlokalizowane w określonych kompartmentach (miejscach). Najliczniej zasiedlony jest przewód pokarmowy, a spośród jego części – jelito grube. Szacuje się, że liczba komórek mikrobioty jelitowej jest porównywalna do liczby wszystkich komórek człowieka, a jej masa wynosi około 1,5–2 kg⁽²⁾. Najczęstsze mikroorganizmy jelitowe pochodzą z grup *Firmicutes* (np. *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* genera), *Bacteroidetes* (np. *Bacteroides* i *Prevotella*), *Acinobacteria* (np. *Bifidobacterium*) i *Proteobacteria* (np. *Escherichia coli*) (tab. 1).

Terminem „mikrobiom”, który zaproponował w 2001 roku Joshua Lederberg, określamy natomiast genom, czyli zespół genów mikrobioty, zakodowany w DNA lub RNA. Postęp wiedzy medycznej sprawił, że diagnostyka mikrobiologiczna współcześnie nie opiera się już wyłącznie na hodowli i metodach serologicznych, które umożliwiają zidentyfikowanie jedynie niewielkiej części gatunków bakterii.

Obecnie w diagnostyce mikrobiomu wykorzystywane są różne metody biologii molekularnej, które – stale udoskonalane – stają się coraz dostępnejsze w praktyce klinicznej. Opierają się one głównie na porównywaniu wysekwencjonowanych genów

Część przewodu pokarmowego	Rodzaje drobnoustrojów
Jama ustna	<i>Streptococcus</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Fusobacterium</i>
Przełyk	Brak
Żołądek	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , rodzina <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Helicobacter</i> , drożdżaki <i>Candida</i>
Jelito cienkie	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Veillonella</i> , rodzina <i>Enterobacteriaceae</i>
Jelito grube	<i>Bacteroides</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , drożdżaki <i>Candida</i>

Tab. 1. Mikrobiom poszczególnych części przewodu pokarmowego⁽³⁾

kodujących jednostkę 16S rybosomalnego RNA bakterii z sekwencjami genów zgromadzonymi w bazach danych. Od czasu wprowadzenia przez Sanger i wsp. oraz Maxama i Gilberta w 1977 roku technik sekwencjonowania metody te cały czas ulegają dynamicznemu rozwojowi⁽⁴⁾. Dzięki jednej z nich – tzw. metodzie shotgun („strzału na ślepo”) – w 1996 roku po raz pierwszy opublikowano sekwencję genomu bakteryjnego *H. pylori* $1,8 \times 10^6$ pz⁽⁵⁾, a w 2001 roku – całego genomu człowieka $2,91 \times 10^9$ pz⁽⁶⁾. Najbardziej nowoczesne obecnie techniki to sekwencjonowanie drugiej/następnej generacji (*next-generation sequencing*, NGS) i trzeciej generacji (tab. 2)⁽⁷⁾.

W pierwszej z nich wykorzystuje się wysokoprzepustowe sekwenatory, w których możliwe jest jednoczesne sekwencjonowanie nawet miliona fragmentów DNA. Metoda NGS pozwala na sekwencjonowanie kompletnych genomów bakterii (sekwencjonowanie całego genomu – *whole-genome sequencing*, WGS) oraz dużej liczby losowo pofragmentowanych odcinków DNA, które następnie są składane komputerowo (metasekwencjonowanie, metabarkoding, metoda shotgun). Cały proces przebiega w trzech etapach – izolacji i stworzenia biblioteki DNA; amplifikacji matrycy oraz masowego, równoległego sekwencjonowania.

Metody trzeciej generacji dają możliwość bezpośredniego odczytu sekwencji z pojedynczej cząsteczki DNA (*single-molecule sequencing*, SMS) bez konieczności jej amplifikacji⁽⁸⁾. Badanie sekwencji materiału genetycznego pobranego bezpośrednio z jego środowiska określamy jako metagenomikę. W przypadku badań mikrobiomu jelitowego próbki mogą stanowić kał pacjenta bądź fragmenty śluzówki ściany przewodu pokarmowego. Spośród terminów związanych z diagnostyką mikrobiomu warto przybliżyć jeszcze takie pojęcia, jak: metagenom – całość DNA i RNA populacji hodowlanych i niehodowlanych mikroorganizmów człowieka; metatranskryptom – całość mitochondrialnego RNA, metaproteom – całość syntetyzowanych białek bakteryjnych oraz metabolom – całość produktów metabolizmu⁽⁸⁾.

MIKROBIOTA PRZEWODU POKARMOWEGO

Skład mikrobioty przewodu pokarmowego zależy od wielu czynników i podlega ciągłej modyfikacji w trakcie rozwoju

I generacji	Metoda Sangera (metoda terminacji łańcucha)	DNA wyznakowane barwnikiem fluorescencyjnym, poddane elektroforezie na żelu poliakrylamidowym; odczyt przez wzbudzenie barwnika światłem lasera
	Metoda Maxama–Gilberta	Wyznakowanie cząsteczek DNA radioaktywnym izotopem fosforu; metoda chemicznej degradacji łańcucha DNA
II generacji (metody NGS)	Pirosekwencjonowanie (454 Life Sciences)	Synteza DNA w czasie rzeczywistym rejestrowana poprzez pomiar ilości PPI uwalnianego w momencie włączenia komplementarnej zasady do nowo syntezowanej nici DNA
	Sekwencjonowanie mostkowe, technologia Illumina®	Synteza odwracalną terminacją; do pofragmentowanego DNA dołączane są dwuniciowe adaptery
	Sekwencjonowanie typu Ion Torrent	Synteza z detekcją protonów w układzie scalonym
	Sekwencjonowanie przez ligację (SOLiD)	Ligacja oligonukleotydów znakowanych fluorescencyjnie na mikroplątce
III generacji (metody NGS)	Technologia tSMS	Odczyt sekwencji bez amplifikacji
	Sekwencjonowanie z użyciem technologii FRET	Synteza DNA w czasie rzeczywistym naśladująca proces replikacji DNA
	Metoda sekwencjonowania SMRT	Synteza i detekcja pojedynczych komplementarnych nukleotydów
	Sekwencjonowanie nanoporowe	Kontrolowane odcinanie z nici DNA nukleotydów przechodzących przez nanopory, w których mierzone jest natężenie prądu

FRET – Förster resonance energy transfer, rezonansowy transfer energii Förstera; **NGS** – next-generation sequencing, sekwencjonowanie następnej generacji; **PPI** – pirofosforan; **SMRT** – single-molecule real-time, pojedyncza cząsteczka w czasie rzeczywistym; **tSMS** – true single-molecule sequencing, sekwencjonowanie pojedynczej cząstki.

Tab. 2. Techniki sekwencjonowania^(7,8)

osobniczego. Podstawową rolę w kształtowaniu składu mikrobioty jelitowej odgrywa droga porodu. Na podstawie badań próbek kału dzieci urodzonych drogą cięcia cesarskiego wykazano w nich mniejszą ilość *Bifidobacterium* i *Bacteroides* oraz mniejsze zróżnicowanie gatunków w porównaniu z grupą dzieci urodzonych siłami natury, zarówno bezpośrednio po porodzie⁽⁹⁾, jak i w 2. roku życia⁽¹⁰⁾. Pomimo doniesień z 2017 roku („Nature Medicine”) o braku tego typu różnic u niemowląt w 6. tygodniu życia⁽¹¹⁾ powszechnie uważa się, że poród naturalny pozytywnie wpływa na skład mikrobioty przewodu pokarmowego. Kolejnym ważnym czynnikiem modelującym bioróżnorodność jelitową jest sposób żywienia niemowlęcia. Karmienie naturalne zwiększa ilość *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* (*L. gasseri*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. fermentum*), natomiast karmienie mieszkankami modyfikowanymi promuje wzrost *Bacteroidetes*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae* i *Veillonella*^(12–14). Kolejne etapy rozwoju dziecka, wiążące się z rozszerzaniem diety o pokarmy stałe, również nie pozostają bez znaczenia w kształtowaniu mikrobiomu, który stabilizuje się na poziomie podobnym jak u dorosłych dopiero około 2.–3. roku życia⁽¹⁵⁾. W toku ontogenezy na skład mikrobiomu jelitowego oddziałują ponadto różnorodne czynniki środowiskowe, takie jak zmiana miejsca zamieszkania, diety, stylu życia, aktywności czy przyjmowanie antybiotyków, które mogą istotnie zmieniać proporcje poszczególnych gatunków bakterii, powodując dysbiozę. Uważa się, że dla prawidłowego funkcjonowania mikrobiomu najważniejsze jest jego duże zróżnicowanie. Korzystny układ mikroorganizmów to taki, w którym bakterie z rodzaju *Bacteroides* dominują nad *Prevotella*. Taki skład mikrobiomu opisywany jest u mieszkańców krajów rozwijających się^(16,17), a przyczyny tego upatruje się przede wszystkim w diecie. Wykazano, że zwiększenie różnorodności mikroorganizmów w kale pacjentów powoduje między innymi dieta bogata w owoce i warzywa⁽¹⁸⁾. Badania wskazują ponadto, że u osób spożywających posiłki niskotłuszczowe lub niskowęglowodanowe oprócz spadku masy ciała obserwowana jest również zmiana profilu bakteryjnego jelit⁽¹⁹⁾. Natomiast

u osób pozostających na tak zwanej diecie zachodniej, bogatej w tłuszcze nasycone i cukry proste, stwierdza się mniejszą różnorodność mikroorganizmów, szczególnie z grupy *Firmicutes*, co prowadzi do ekspansji *Proteobacteria*.

WPLYW MIKROBIOMU JELITOWEGO NA ZDROWIE

Kształtowanie mikrobiomu jelitowego na wczesnym etapie życia jest przedmiotem intensywnych badań i polega na dostarczaniu do przewodu pokarmowego dziecka z jednej strony tzw. dobrych bakterii, z drugiej zaś prebiotyków (niepodlegających trawieniu składników żywności, które wybiórczo stymulują rozwój i/lub aktywność jednego albo ograniczonej liczby szczepów bakterii w jelicie grubym, korzystnie wpływających na stan zdrowia człowieka⁽²⁰⁾), jakimi są oligosacharydy mleka kobiecego, oraz składników immunologicznych, takich jak immunoglobuliny klasy IgA czy laktoferyny. Duże zainteresowanie wzbudzają postbiotyki, tj. wszystkie produkty procesu fermentacji, w tym komórki drobnoustrojów oraz ich składniki i metabolity, które pozytywnie wpływają na zdrowie człowieka⁽²¹⁾. Dotychczas przeprowadzono niewiele badań na ich temat, ale wydają się one dobrą alternatywą dla probiotyków ze względu na ich działanie prozdrowotne, pomimo braku żywotności drobnoustrojów⁽²²⁾. Mikrobiota ma ogromny udział w procesach zachodzących w przewodzie pokarmowym. Mikroorganizmy poprzez wytwarzane enzymy i metabolity, określane jako tzw. metabolom jelitowy, wpływają na rozwój błony śluzowej jelit, aktywację enzymów trawiennych, perystaltykę i przyswajanie składników odżywczych. Ponadto regulują metabolizm kwasów żółciowych, bilirubiny, cholesterolu, kwasów tłuszczowych, enzymów nowotworczych oraz produkcję witamin (K, B₁₂, kwasu foliowego). Mają też udział w kształtowaniu układów immunologicznego i neurologicznego, stając się elementem osi jelitowo-mózgowej⁽²³⁾. Pacjenci z zachwianą równowagą mikrobioty jelitowej mogą się skarżyć na nietolerancję różnych składników pokarmowych,

prowadzącą do takich objawów, jak: nadmierna produkcja gazów jelitowych, wzdęcia, bóle/dyskomfort brzucha. Wyniki badań nad korelacją składu mikrobiomu z zaburzeniami czynnościowymi przewodu pokarmowego nie są jednoznaczne. Może to być spowodowane różnymi założeniami metodologicznymi w zakresie oceny mikrobiomu (odmienność wykorzystywanej do badania próbki – stolec/bioptaty śluzówki/slina/trzęs żołądka; odcinek przewodu pokarmowego, z którego pobrano materiał) i doбором badanych grup (różnice kulturowe, socjoekonomiczne, etniczne, środowiskowe – stosowana dieta, terapia oraz ekspozycja na inne czynniki)⁽¹⁾. Natomiast zdecydowana większość aktualnych badań wskazuje na zmniejszenie ilości i różnorodności gatunków bakterii w zespole jelita drażliwego (*irritable bowel syndrome*, IBS)^(24,25). Ponadto w przypadku ciężkiego IBS wykazano przewagę gatunków z rodzajów *Prevotella* i *Clostridium* (różnica w grupie pacjentów, u których próbki materiału badano metodą sekwencjonowania 16sRNA, brak różnic przy tradycyjnym posiewie)⁽²⁶⁾.

Potwierdzenie związku czynnościowych zaburzeń przewodu pokarmowego z dysbiozą pozwala wnioskować, że modyfikacja mikrobioty może się wiązać ze zmniejszeniem dolegliwości. W modelu doświadczalnym u myszy wolnych od zarażeń wykazano możliwość wywołania nadwrażliwości trzewnej poprzez przeszczep kału od zwierząt skolonizowanych florą patologiczną⁽²⁷⁾. W randomizowanym kontrolowanym badaniu z placebo udokumentowano, że objawy IBS może łagodzić stosowanie rifaksyminy⁽²⁸⁾. Ponadto u pacjentów z rozpoznaniem IBS stwierdzono związek poprawy stanu klinicznego ze zmianą mikrobiomu poprzez zastosowanie probiotyków⁽²⁹⁾, przeszczep kału czy zmianę diety⁽³⁰⁾.

Rola składu mikrobiomu jelitowego w czynnościowych zaburzeniach przewodu pokarmowego jest przedmiotem dynamicznych badań, co umożliwi konkretne interwencje terapeutyczne i pozwala pomagać chorym.

Konflikt interesów

Autorki nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo

1. Quigley EM, Barbara G, Feinle-Bisset C et al.: The intestinal microenvironment and functional gastrointestinal disorders. In: Drossman DA, Chang L, Chey WD et al. (eds.): Rome IV Functional Gastrointestinal Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction. Vol. I, The Rome Foundation, Raleigh, NC 2016: 179–247.
2. Sender R, Fuchs S, Milo R: Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. PLoS Biol 2016; 14: e1002533.
3. Gregorczyk-Maślanka K, Kurzawa R: Mikrobiota organizmu ludzkiego i jej wpływ na homeostazę immunologiczną – część I. Alerg Astma Immun 2016; 21: 146–150.
4. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci U S A 1977; 74: 5463–5467.
5. Fleischmann RD, Adams MD, White O et al.: Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. Science 1995; 269: 496–512.
6. Venter JC, Adams MD, Myers EW et al.: The sequence of the human genome. Science 2001; 291: 1304–1351.
7. Orłowska M, Sobczyk M: Metody sekwencjonowania nowej generacji oraz ich wykorzystanie w genetyce, hodowli i biotechnologii roślin. Aparatura Badawcza i Dydaktyczna 2017; 22: 54–61.
8. Kotowska M, Zakrzewska-Czerwińska J: Kurs szybkiego czytania DNA – nowoczesne techniki sekwencjonowania. Biotechnologia 2010; 4: 24–38.
9. Biasucci G, Benenati B, Morelli L et al.: Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. J Nutr 2008; 138: 1796S–1800S.
10. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC et al.: Decreased gut microbiota diversity, delayed *Bacteroidetes* colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. Gut 2014; 63: 559–566.
11. Chu DM, Ma J, Prince AL et al.: Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. Nat Med 2017; 23: 314–326.
12. Adlerberth I, Wold AE: Establishment of the gut microbiota in Western infants. Acta Paediatr 2009; 98: 229–238.
13. Fallani M, Young D, Scott J et al.; other members of the INFABIO Team: Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 51: 77–84.
14. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW: Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence *in situ* hybridization (FISH). Anaerobe 2011; 17: 478–482.
15. Szajewska H: Probiotyki i prebiotyki. In: Szajewska H, Horvath A (eds.): Żywnienie i leczenie żywieniowe dzieci i młodzieży. Medycyna Praktyczna, Kraków 2017: 82–86.
16. El Aidy S, Hooiveld G, Tremaroli V et al.: The gut microbiota and mucosal homeostasis: colonized at birth or at adulthood, does it matter? Gut Microbes 2013; 4: 118–124.
17. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M et al.: Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107: 14691–14696.
18. Yatsuneko T, Rey FE, Manary MJ et al.: Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature 2012; 486: 222–227.
19. Albenberg LG, Wu GD: Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. Gastroenterology 2014; 146: 1564–1572.
20. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW et al.: Defining the human microbiome. Nutr Rev 2012; 70 Suppl 1: S38–S44.
21. Collado MC, Vinderola G, Salminen S: Postbiotics: facts and open questions. A position paper on the need for a consensus definition. Benef Microbes 2019; 10: 711–719.
22. Malagón-Rojas JN, Mantziari A, Salminen S et al.: Postbiotics for preventing and treating common infectious diseases in children: a systematic review. Nutrients 2020; 12: 389.

23. Cukrowska B: Znaczenie programowania mikrobiotycznego w rozwoju przewlekłych chorób infekcyjnych. *Stand Med Pediatr* 2016; 13: 1019–1028.
24. Giamarellos-Bourboulis E, Tang J, Pylaris E et al.: Molecular assessment of differences in the duodenal microbiome in subjects with irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2015; 50: 1076–1087.
25. Maharshak N, Ringel Y, Katibian D et al.: Fecal and mucosa-associated intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 2018; 63: 1890–1899.
26. Tap J, Derrien M, Törnblom H et al.: Identification of an intestinal microbiota signature associated with severity of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2017; 152: 111–123.e8.
27. Crouzet L, Gaultier E, Del’Homme C et al.: The hypersensitivity to colonic distension of IBS patients can be transferred to rats through their fecal microbiota. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e272–e282.
28. Pimentel M, Lembo A, Chey WD et al.; TARGET Study Group: Rifaximin therapy for patients with irritable bowel syndrome without constipation. *N Engl J Med* 2011; 364: 22–32.
29. Ford AC, Quigley EMM, Lacy BE et al.: Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 1547–1561.
30. Halmos EP, Power VA, Shepherd SJ et al.: A diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2014; 146: 67–75.e5.