

В.П. БУЛАТОВ, А.А. КАМАЛОВА, Э.И. УДАЧИНА, О.Д. ЗИНКЕВИЧ,
Н.А. САФИНА, А.Р. ШАКИРОВА

616.34.31-07

Казанский государственный медицинский университет
Казанская государственная медицинская академия
Детская республиканская клиническая больница МЗ РТ

Современные методы диагностики дисбактериоза кишечника

Камалова Азлита Асхатовна

кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной педиатрии с курсами
поликлинической педиатрии и последипломного образования Казанского государственного медицинского университета
420138, г. Казань, ул. Дубравная, д. 65, кв. 59, тел. 8-917-272-42-07, e-mail: aelitakamalova@gmail.com

В статье представлен современный взгляд на проблему дисбактериоза кишечника у детей, методы диагностики и их трактовка. Представлены собственные исследования характера микрофлоры кишечника по содержанию Ig-расщепляющей (протеолитической) активности фекалий у 133 детей с хронической гастродуоденальной патологией. Показано, что метод может быть полезным для характеристики кишечной микробиоты.

Ключевые слова: дети, дисбактериоз кишечника, диагностика.

V.P. BULATOV, A.A. KAMALOVA, E.I. UDACHINA, O.D. ZINKEVICH, N.A. SAFINA, A.R. SHAKIROVA

Kazan State Medical University
Kazan State Medical Academy
Children's Republican Clinical Hospital RT

Modern methods of diagnostics intestinal dysbiosis

The article presents a modern approach to the problem of intestinal dysbiosis in children, methods of diagnosis and treatment. Presented own research into the nature of intestinal microflora on the content of Ig-cleaving (proteolytic) activity of faeces in 133 children with chronic gastroduodenal pathology. It is shown that the method may be useful for the characterization of intestinal microbiota.

Keywords: children, intestinal dysbiosis, diagnostics.

В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что изменение количественного и качественного состава микрофлоры кишечника практически всегда сопровождает любое неблагополучие в пищеварительной системе. Не отвечая критериям самостоятельной нозологической единицы, дисбактериоз кишечника

является как следствием, так и одним из звеньев патогенеза патологии желудочно-кишечного тракта. С одной стороны, дисбактериоз кишечника всегда вторичен, поскольку возникает при любом изменении внутренней среды кишки вследствие действия патогенных факторов или прямого влияния на кишечную



Таблица 1.

Классификация дисбактериоза кишечника по И.Б. Куваевой и К.С. Ладодо (1991)

Первая степень	Латентная фаза дисбиоза: проявляется только в снижении на 1-2 порядка количества защитной микрофлоры — бифидобактерий, лактобацилл, а также полноценных кишечных палочек — до 80% от общего количества. Остальные показатели соответствуют физиологической норме (эубиозу). Как правило, начальная фаза не вызывает дисфункций кишечника и возникает как реакция организма практически здорового человека на воздействие неблагоприятных факторов, таких как, например, нарушение режима питания и др. В этой фазе возможно вегетирование в кишечнике незначительного количества отдельных представителей условно-патогенной флоры. Клинических проявлений дисбактериоза в этой фазе нет.
Вторая степень	Пусковая фаза более серьезных нарушений характеризуется выраженным дефицитом бифидобактерий на фоне нормального или сниженного количества лактобацилл или сниженной их кислотообразующей активности, дисбалансом в количестве и качестве кишечных палочек, среди которых нарастает доля лактозонегативных или цитрат-ассимилирующих вариантов. При этом на фоне дефицита защитных компонентов кишечного микробиоценоза происходит размножение либо плазмокоагулирующих стафилококков, либо протеев, либо грибов рода <i>Candida</i> . Вегетирование в кишечнике протеев или плазмокоагулирующих стафилококков в этой фазе развития дисбактериоза чаще транзиторное, чем постоянное. Функциональные расстройства пищеварения выражены нечетливо — спорадически жидкий стул зеленоватого цвета с неприятным запахом, со сдвигом pH в щелочную сторону, иногда, напротив, задержка стула, иногда отмечается тошнота.
Третья степень	Фаза агрессии аэробной флоры характеризуется отчетливым нарастанием содержания агрессивных микроорганизмов — при этом размножаются до десятков миллионов в ассоциации золотистые стафилококки и протеи, гемолитические энтерококки, наблюдается замещение полноценных эшерихий бактериями родов <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> и др. Эта фаза дисбактериоза проявляется дисфункциями кишечника с расстройствами моторики, секреции ферментов и всасывания. У больных отмечается учащенный разжиженный стул, часто зеленого цвета, снижение аппетита, ухудшение самочувствия, дети становятся вялыми, капризными.
Четвертая степень	Фаза ассоциативного дисбиоза характеризуется глубоким разбалансированием кишечного микробиоценоза с изменением количественных соотношений основных групп микроорганизмов, изменением их биологических свойств, накоплением токсических метаболитов. Характерно вегетирование энтеропатогенных серотипов <i>E.coli</i> , сальмонелл, шигелл и других возбудителей острых кишечных инфекций. Возможно размножение клостридий. Эта фаза дисбиоза характеризуется функциональными расстройствами пищеварительной системы и нарушениями общего нутритивного статуса, дефицитом массы тела, бледностью кожных покровов, снижением аппетита, частым стулом с примесью слизи, зелени, иногда крови, с резким гнилостным или кислым запахом.

микрофлору. С другой стороны, дисбактериоз кишечника сам может приводить к повреждению кишечного эпителия, тем самым нарушая процессы пищеварения и усугубляя клиническое течение заболеваний желудочно-кишечного тракта.

В настоящей статье мы коснемся преимущественно диагностики нарушений микробиологии толстого кишечника.

Толстая кишка представляет собой биотоп с высокой степенью обсемененности. В ней обнаружено более 400 видов микроорганизмов. Показано преобладание анаэробной микрофлоры, представленной на 90% бактероидами и бифидобактериями (главная флора). Аэробы составляют 10% — кишечные палочки, лактобациллы, энтерококки и др. (сопутствующая флора). Остаточная флора, составляющая менее 1% от общего количества микроорганизмов, представлена клебсиеллами, протеем, дрожжами, клостридиями, энтеробактером и цитробактером и др. Необходимо отметить одну особенность микрофлоры толстого кишечника — по мере продвижения от проксимальных отделов к дистальным увеличивается ее обсемененность. В проксимальном отделе общее число микроорганизмов составляет 10^8 - 10^9 , а в прямой кишке — 10^{11} - 10^{12} в 1 г кала. Более 90% массы кала приходится на бактерии. Нормальная микрофлора кишечника колонизирует как просвет кишечного тракта, так и поверхность слизистой оболочки кишки, формируя при этом пристеночную или мукозную микрофлору (М-микрофлора)

и полостную микрофлору (П-микрофлора). Основную защитную функцию выполняет мукозная микрофлора [1, 2, 3, 4].

На сегодня существуют следующие методы лабораторной диагностики дисбактериоза кишечника [2, 4]:

1. Бактериологический анализ (определение состава фекальной микрофлоры, отражающей микробный состав лишь дистальных отделов кишечника — наиболее доступный метод, однако недостаточно точный).
2. Биохимический экспресс — метод определения протеолитической активности супернатантов фекалий.
3. Высоковольтный электрофорез на бумаге для обнаружения β -аспартилглицина, β -аспартиллизина, β -аланина, 5-аминовалериановой и γ -аминомасляной кислот и др.
4. Ионная хроматография, определяющая в фекалиях биогенные амины, желчные и карбоновые кислоты, ароматические соединения.
5. Газожидкостная хроматография для определения в фекалиях летучих жирных кислот.
6. Микроскопия фекального мазка.

В результате многолетнего изучения кишечной микрофлоры Р.В. Эпштейн-Литвак и Ф.Л. Вильшанская (1970) разработали методы лабораторной диагностики дисбактериоза, основанные на бактериологическом исследовании кала. Эти методы

Таблица 2.

Активность протеолитических ферментов у детей с гастродуоденальной патологией

Протеолитическая активность ферментов мг/г/час/г кала	Группы детей с гастродуоденальной патологией			Контрольная группа	P
	Неэрозивные гастродуодениты	Эрозивные гастродуодениты	ЯБДПК		
	Группа 1 n=55	Группа 2 n=31	Группа 3 n=33	n=14	
Общая	9,79 (2,64-21,91)	12,64 (3,178-21,05)	13,31 (5,363-28,58)	7,625 (2,386)	$P^{1-K}<0,05$ $P^{2-K}<0,05$ $P^{3-K}<0,05$ $P^{1-3}<0,05$
Металло-зависимых	0 (0-12,58)	0 (0-13,785)	0,41 (0-8,9)	0 (0-6,39)	$P=0,231$
Сериновых	0,14 (0-8,58)	0,22 (0-15,34)	0,202 (0-3,634)	0 (0-7,53)	$P=1,000$
Тиоловых	9,37 (0-17,48)	11,65 (0-21,05)	12,28 (1,17-28,58)	5,018 (2,798)	$P^{1-K}<0,05$ $P^{2-K}<0,05$ $P^{3-K}<0,05$ $P^{1-3}<0,05$

до сих пор существуют практически в неизмененном виде и широко применяются. Но у данного метода есть недостатки. Бактериологическое исследование кала отражает микробный состав полостной флоры лишь дистальных отделов кишечника. Обычно метод предоставляет информацию о 15-20 видах микробов. Число культивируемых кишечных анаэробных бактерий не превышает 7-50% от предполагаемого их истинного количества. В тени остается около 500 видов анаэробов и состав тонкокишечной микрофлоры.

Невозможно идентифицировать бактериологическим методом простейших, грибы и вирусы. К тому же данный метод не дает качественной характеристики микробиоценоза. Хотелось отметить, чтобы выделить всеми доступными современной медицине методами все возможные виды микрофлоры и составить их развернутую бактериологическую характеристику, потребовалось бы не менее одного года [5, 6]. В литературе также имеются сообщения, подтверждающие низкую диагностическую ценность исследования кала на дисбактериоз [7].

Ниже приведена классификация дисбактериоза кишечника, предложенная И.Б. Куваевой и К.С. Ладодо в 1991 году [8]. Данная классификация базируется на данных бактериологического исследования кала и клинической симптоматике, которая, как правило, неспецифична.

Несмотря на введение в микробиологическую практику новых усовершенствованных методов исследования, до сих пор четкой границы между микробиоценозом кала здоровых и больных лиц так и не выявлено. Каловый микробиоценоз является сложным и динамичным. Состав и количество бактерий широко варьируют.

В последних исследованиях, посвященных анализу микробиоценоза кала, используется метод флуоресцентной гибридизации ДНК in situ (FISH). Количественный анализ бактериального состава и интенсивности свечения в центральных участках образца фекалий, на поверхности и в слизи позволили различить особенности биологической структуры кала здоровых и больных. Особенностью данных исследований является то, что исследуются не гомогенизированные образцы, а цилиндрические образцы кала, полученные от больных, так как при

гомогенизации бактерии равномерно распределяются в образце, чего не бывает в естественных условиях [9].

Существуют и другие методы диагностики дисбактериоза кишечника, основанные на определении метаболитов кишечной микрофлоры [2]. Эти соединения разделены на 4 группы. В первую группу входят индикан, п-крезол, фенол. Индикан расщепляется индол-положительными микробами, п-крезол, фенол — анаэробными и аэробными микроорганизмами. Вторая группа включает H_2 , CH_4 , CO_2 , C_2-C_6 жирные кислоты. Это метаболиты строгих анаэробов. Третью группу составляют деконъюгированные желчные кислоты — метаболиты бактероидов, бифидобактерий, клостридий, стрептококков и энтеробактерий. Аммиак входит в четвертую группу, является метаболитом грамположительных и грамотрицательных анаэробов, энтеробактерий и стрептококков.

Для определения метаболитов кишечной микрофлоры используются такие методы, как газо-жидкостная, высокоэффективная жидкостная хроматография, к сожалению, не всегда доступные в повседневной клинической практике.

В настоящее время идентифицирован ряд факторов кишечной микрофлоры, обеспечивающих персистенцию и колонизацию симбионтной и условно-патогенной микрофлоры. К таким факторам относятся ферменты, которые формируют устойчивость некоторых представителей кишечной микрофлоры к действию секреторных антител [10]. Накоплены данные о том, что ферменты, способные расщеплять секреторные иммуноглобулины слизистых оболочек, способствуют колонизации эпителия патогенными бактериями. В связи с этими фактами в последнее время были предложены и апробированы скрининговые биохимические методы оценки состояния микробиоценоза кишечника по уровню протеолитической, Ig-расщепляющей активности супернатантов фекалий [6, 11, 12]. Эти методы диагностики дисбиоза основаны на том, что различные таксономические виды бактерий, колонизирующие разные отделы кишечника, обладают неодинаковой протеолитической способностью. Как правило, индигенная микрофлора кишечника человека и его фекалий, в частности бифидо- и лактофлора, обладает выраженной сахаралитической, нежели протеолитической активностью. Возрастание суммарной



протеолитической активности супернатантов фекалий тесно связано с увеличением количественного содержания многих видов условно-патогенных бактерий в кишечнике или с возрастанием доли бактерий, продуцирующих протеолитические энзимы, колонизирующих стенку кишечника. IgA-протеазы — секретируемые факторы бактериальной природы. Они представляют собой специфические энзимы, расщепляющие IgA на классические Fab- и Fc-фрагменты, лишая его тем самым антительных свойств [10].

Протеолитическая активность, в том числе иммуноглобулин-расщепляющая активность, выявлена у многих видов патогенных и условно-патогенных бактерий, грибов и простейших, способных колонизировать кишечник. Выделены IgA-протеиназы у представителей семейства энтеробактерий: *Proteus* spp, *Serratia marcescens*, *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. Coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp. **Грамположительная кокковая микрофлора кишечника** — *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis* — также способна к продукции Ig-расщепляющих протеиназ [12, 13]. IgA-протеиназы индуцируют грибы рода *Candida*. Изучены протеолитические ферменты, являющиеся факторами вирулентности, у таких простейших, как *Lambia intestinalis* [14]. Некоторые представители фекальной микрофлоры здоровых людей: *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus* spp. *Propionibacterium acnes*, *Cl. perfringens*, *Cl. bifermentans*, *Cl. sporogenes*, *Cl. ramosum*, *Bacteroides* spp. *Bifidobacterium* spp. — также обладают протеолитической активностью [12, 13]. Вероятно, эта способность вносит свой вклад в вирулентность нормальной микрофлоры, которая, как известно, появляется при дисбактериозе кишечника наряду со снижением антагонистических свойств.

Возрастание суммарной протеолитической активности тесно связано с увеличением количественного содержания многих видов условно-патогенных бактерий в кишечнике и/или с возрастанием доли бактерий, продуцирующих протеолитические энзимы, колонизирующих стенку кишечника [11, 12].

Способность продуцировать IgA протеиназы характерна в основном для патогенных микроорганизмов и является тем условием, которое обеспечивает существование микробов на слизистых поверхностях [10].

Патогенность микробных протеиназ обусловлена не только их деградирующей активностью в отношении антител, но и способностью непосредственно повреждать эпителиальные клетки слизистых оболочек и активировать гемокоагуляционные механизмы в очаге воспаления [15, 16, 17]. Некоторые из бактериальных протеиназ способны снижать жизнеспособность энтероцитов кишечника и повреждать защитный барьер слизистых [18, 19]. Протеолитическая активность исследовалась при патологических состояниях. Так, изучен протеолитический потенциал фекалий при колитах, болезни Крона, в детском возрасте — при кишечной инфекции и дисбактериозах [11, 12, 20, 21, 22, 23]. Было показано, что положительные протеолитические (казеинолитические) пробы, причем высокой степени активности, чаще выявлялись в группе детей с преобладающим выделением различных видов условно-патогенных бактерий и выраженными изменениями микробиологии кишечника [11]. Протеолитическая активность фекалий нарастала с увеличением содержания в фекалиях гемолитических *E. Coli*, бактерий рода *Proteus*, *Staphylococcus* и их ассоциаций с псевдоманадами, клебсиеллами, серрациями, гафниями и грибами рода *Candida*. Во всех случаях, когда в микрофлоре находили бактерии рода *Proteus* в количестве 5 lg КОЕ/г и выше, протеолитическая активность супернатантов была высокой.

Особый интерес представляет исследование, в котором изучалась Ig-расщепляющая активность микрофлоры кишечника по профилю протеиназ в норме и при патологических со-

стояниях [12]. Выявлено, что условно-патогенная микрофлора обладает более выраженным агрессивным потенциалом, обусловленным Ig-протеолитической активностью по сравнению с бифидофлорой. *Уровень иммуноглобулин — расщепляющей активности фекалий у детей с нарушениями микробиологии кишечника — был выше, чем у детей с дисбиозом.*

Таким образом, методы, позволяющие оценить уровень протеолитической активности фекалий, косвенно характеризуют возникающий дисбаланс в составе не только фекальной, но и пристеночной тонко- и толстокишечной микрофлоры, показывают ее качественные изменения.

В доступной литературе мы не нашли данных об использовании данного метода у детей с хронической гастродуоденальной патологией. Мы применили высокочувствительный способ определения общей протеолитической, иммуноглобулин-расщепляющей активности копрофильтратов детей с хронической гастродуоденальной патологией на основе твердофазного иммуноферментного анализа [12]. Специфичность метода обеспечивается использованием в качестве субстрата в реакции протеолиза фармакопейного препарата «Иммуноглобулин человеческий нормальный» и конъюгата, позволяющего выявлять нерасщепленные молекулы антител. Используя его, можно с высокой чувствительностью определять активность протеиназ с таким типом активных центров, как сериновые, металлозависимые и аспартатные (тиоловые) путем введения обратимых, необратимых ингибиторов и изменением pH реакционной среды до кислых значений.

Нами проведено исследование Ig-расщепляющей (протеолитической) активности фекалий у 133 детей с хронической гастродуоденальной патологией. Для изучения активности протеиназ, дети были разделены на 3 группы. Первую группу (55 больных) составили дети с неэрозивными гастродуоденитами, вторую группу (31 больной) — больные эрозивными гастродуоденитами, третью — дети с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки (33 человека). Результаты представлены в таблице 2.

Нами выявлено, что показатели 1-й группы детей статистически значимо отличаются от 2-й и 3-й групп по общей протеолитической активности и активности тилоловых ферментов. Также необходимо отметить, что ферменты тилолового типа вносят наибольший вклад в протеолитическую активность фекалий. Таким образом, нами установлено повышение общей протеолитической активности копрофильтратов по мере прогрессирования гастродуоденальной патологии от неэрозивных форм к эрозивно-язвенным поражениям.

На наш взгляд, в плане диагностики дисбиоза кишечника изучение иммуноглобулин-расщепляющей активности микрофлоры представляется перспективным направлением, так как способность продуцировать данные ферменты считается фактором патогенности и может служить качественной характеристикой кишечной микробиоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Урсова Н.И. Современные технологии в коррекции дисбактериозов кишечника у детей. — Москва, 2003. — 83 с.
2. Мишушкин О.Н., Ардатская М.Д., Бабин В.Н., Домарадский И.В., Дубинин А.В. Дисбактериоз кишечника // Российский медицинский журнал, 1999. — № 3. — С. 40-44.
3. Казначеева Л.Ф. и др. Методы коррекции дисбиотических нарушений кишечника у детей в схемах и таблицах. — Новосибирск, 2007. — 48 с.
4. Хавкин А.И. Нарушения микробиологии кишечника. Принципы коррекции. — Москва, 2004. — 40 с.

5. Барановский А. Ю., Кондрашина Э.А. Дисбактериоз кишечника. 3-е изд. — СПб: Питер, 2008. — 240 с.
6. Зинкевич О.Д., Тюрин Ю.А., Сафина Н.А. Скрининговая диагностика дисбактериоза кишечника человека по уровню активности протеолитических ферментов в копрофильтратах // Методические рекомендации — Казань, 2003. — С. 18.
7. Барсук А.Л., Сумина А.В., Кузин В.Б., Козлов Р.С. Практическое обоснование низкой диагностической ценности микробиологического исследования кала на дисбактериоз // Вопросы диагностики в педиатрии, 2009. — № 2. — С. 7-11.
8. Куваева И.Б., Ладодо К.С. Микроэкологические и иммунные нарушения у детей. — М., 1991.
9. Swidsinski A. et al. Структура микробиоценоза кала у больных с хронической идиопатической диареей и у здоровых лиц // Клиническая гастроэнтерология и гепатология. Русское издание. — 2009. — Т. 2. — № 4. — С. 302-313.
10. Агапова О.В., Бондаренко В.М. Бактериальные IgA протеазы // Журн. микробиол., 1998. — № 2. — С. 121-125.
11. Горская Е.М., Бондаренко В.М., Шогенова Ю.С., Лыкова Е.А., Мазанкова Л.Н., Волосникова И.В., Бродинова Н.С., Изачик Н.А. Протеолитическая активность содержимого толстой кишки в норме и при микроэкологических нарушениях // Журн. микробиол., 1995. — № 3. — С. 116-120.
12. Тюрин Ю.А. Протеиназная активность микрофлоры кишечника при острых кишечных инфекциях у детей.: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Казань, 2003.
13. Зинкевич О.Д., Анохин В.А., Тюрин Ю.А. Роль протеолитических ферментов в норме и патологии человека // Инфекции и иммунитет. Сборник статей. — Казань, 2003. — С. 15-18.
14. Williams A.G., Coombs G.H. Multiple protease activities in *Giardia intestinalis* trophozoites // Int. J. Parasitol. — 1995 — Vol. 25 (7) — P. 771-778.
15. Azghani A.O., Gray L.D., Johnson A.R. A bacterial protease perturbs the paracellular barrier function of transporting epithelial monolayers in culture // Infect Immun. — 1993. — Vol. 61. — No 6. — P. 2681-2686.
16. Holder I.A., Wheeler R. Experimental studies of the pathogenesis of infections owing to *Pseudomonas aeruginosa*: elastase, an IgG protease // Can J Microbiol. — 1984. — Vol. 30. — No 9. — P. 1118-1124.
17. Mintz C.S., Miller R.D., Gutsell N.S., Malek T. Legionella pneumophila protease inactivates interleukin-2 and cleaves CD4 on human T cells // Infect Immun. — 1993. — Vol. 61. — No 8. — P. 3416-3421.
18. Бондаренко В.М., Шахмарданов М.З. Шигеллез: теория и практика. — М., 2002. — С. 44-58.
19. Hutton D.A., Pearson J.P., Allen A., Foster S.N. Mucolysis of the colonic mucus barrier by faecal proteinases: inhibition by interacting polyacrylate // Clin Sci (Colch). — 1990. — Vol. 78. — № 3. — P. 265-271.
20. Tarlton J.F., Whiting C.V., Tunmore D., Bregenholt S., Reimann J., Claesson M.H., Bland P.W. The role of up-regulated serine proteases and matrix metalloproteinases in the pathogenesis of a murine model of colitis // Am. J. Pathol. 2000. — Vol. 157 (6). — P. 1927-1935.
21. Ruseler-van Embden J.G., van Lieshout L.M. Increased proteolysis and leucine aminopeptidase activity in faeces of patients with Crohn's disease. Digestion // 1988. — Vol. 40 (1). — P. 33-40.
22. Bohe M. Pancreatic and granulocytic endoproteases in faecal extracts from patients with active ulcerative colitis // Scand J Gastroenterol. — 1987. — Vol. 22 (1) — P. 59-64.
23. Кузиков А.Н., Бондаренко В.М., Лыкова Е.А. Особенности казеинолитической активности содержимого толстой кишки при дисбиотических состояниях // Журн. микробиол., 1998. — № 1. — С. 80-83.



WWW.KZNMED.RU
КАЗАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ПОРТАЛ

**ДЛЯ ВРАЧЕЙ И МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ
БЕСПЛАТНЫЕ ЭЛЕКТРОННЫЕ АДРЕСА
С ЗАЩИТОЙ ОТ СПАМА, С ДОСТУПОМ С ЛЮБОГО
КОМПЬЮТЕРА ИЛИ ТЕЛЕФОНА, С ВОЗМОЖНОСТЬЮ
ПРИЕМА БОЛЬШИХ ФАЙЛОВ, КАЛЕНДАРЕМ
И МНОЖЕСТВОМ ДРУГИХ ФУНКЦИЙ.**

ВАШ НОВЫЙ УДОБНЫЙ АДРЕС @KZNMED.RU