

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ ПО ДАННЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА 16S РИБОСОМАЛЬНОЙ РНК

Н.В. Гончар^{1,2}, И.В. Бабаченко^{1,3}, В.В. Гостев¹, О.М. Ибрагимова¹

¹Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

²Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

Characteristics of intestinal microbiota of infants according to data of sequencing of the 16s rRNA gene

N.V. Gonchar^{1,2}, I.V. Babachenko^{1,3}, V.V. Gostev¹, O.M. Ibragimova¹

¹Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

³Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

В работе представлены результаты однократного исследования микробиоты кишечника у здоровых детей первого года жизни. Проведено исследование 11 образцов фекалий, с последующим таргетным секвенированием амплифицированных участков гена 16S рРНК на платформе Miseq (Illumina, США), согласно стандартным протоколам. Суммарно было идентифицировано 600 уникальных OTU (operation taxonomic units), сгруппированных в 7 бактериальных фил (Phylum). На каждый образец приходилось в среднем 190 ± 80 OTU на уровне видов и родов. Установлено доминирование грамположительных анаэробных бактерий ($71 \pm 23\%$). Количественное распределение фил было следующим: фила Firmicutes – $43 \pm 15\%$ (представлены Clostridium spp., Blautia spp., Lactobacillus spp., Enterococcus spp. и Veillonella spp.), фила Actinobacteria – $38 \pm 10\%$ (из которой более 90% OTU были представлены Bifidobacterium spp.) и фила Proteobacteria – $15 \pm 8\%$ (представленные семейством Enterobacteriaceae). Представители филы Bacteroidetes были идентифицированы ($7-15\%$) только в трех из одиннадцати образцов. Все образцы характеризовались низким видовым разнообразием, индекс Шеннона и критерий α -разнообразия были в диапазонах 1,5–4,2 и 3–20 соответственно. У детей, находящихся на грудном вскармливании, отмечено более высокое количество представителей Proteobacteria по сравнению с детьми на искусственном вскармливании. Отмечено влияние неблагоприятных факторов течения беременности матери (прием антибиотиков, респираторная инфекция) на состав микробиоты кишечника детей, что отражалось в доминировании Klebsiella pneumoniae в одном случае и доминировании Enterococcus durans в другом.

Ключевые слова: микробиота, кишечник, дети, 16S рРНК секвенирование, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Bifidobacterium.

Abstract

The article presents the results of a single study the intestinal microbiota of healthy infants. Study was performed 11 fecal samples, followed by targeted sequencing the amplified sites on the 16S rRNA gene Miseq platform (Illumina, USA), according to standard protocols. Total 600 unique OTU (operation taxonomic units), grouped into 7 bacterial phyla (Phylum) have been identified. Each sample had an average of 190 ± 80 OTU at the species level. Established predominance of gram-positive anaerobic bacteria ($71 \pm 23\%$). Quantitative phylum distribution was as follows: phylum Firmicutes – $43 \pm 15\%$ (represented by Clostridium spp., Blautia spp., Lactobacillus spp., Enterococcus spp. and Veillonella spp.), The phylum Actinobacteria – $38 \pm 10\%$ (of which more than 90% the OTU were represented Bifidobacterium spp.) and the phylum Proteobacteria – $15 \pm 8\%$ (represented by the family Enterobacteriaceae). Representatives of phylum Bacteroidetes been identified ($7-15\%$) in only three of eleven samples. All samples characterized by low species diversity, Shannon index and criterion α -diversity were in the range of 1,5–4,2, and 3–20, respectively. Children who are breastfed, observed a higher number of representatives of Proteobacteria, compared with children on artificial feeding. Noted the influence of adverse factors of pregnancy mothers (antibiotics, respiratory infection) on the composition of the intestinal microbiota of children, which reflected in the dominance of Klebsiella pneumoniae in one case, and the dominance of Enterococcus durans otherwise.

Key words: microbiota, gut, children, 16S rRNA sequencing, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Bifidobacterium.

Введение

На сегодняшний день для изучения микробиоты кишечника человека и животных применяются культурально-независимые методы, основанные на метагеномном подходе или таргетном секвенировании амплифицированных участков гена 16S рРНК с использованием технологий высокопроизводительного секвенирования [1, 2]. Такие подходы являются более информативными и позволяют проводить идентификацию подавляющего большинства микробного состава, включая некультивируемых бактерий и архей. Результаты международного проекта по изучению микробиома человека «The Human Microbiome Project Consortium» открыли новые представления о формировании микробиоты человека, в частности микробиоты кишечника. Показано, что уже *in utero* происходит «заселение» плода микроорганизмами, то есть до рождения ребенка [3, 4]. Выделяют несколько стадий колонизации кишечника у детей. Для микробиоты первых нескольких месяцев жизни ребенка характерно низкое видовое микробное разнообразие и высокая межиндивидуальная вариабельность. Микробиота кишечника взрослого человека, напротив, характеризуется стабильностью и высоким видовым разнообразием. В первые дни после рождения доминируют представители Enterobacteriaceae, позднее происходит колонизация строгими анаэробами: Bifidobacterium, Clostridium и Bacteroides [5]. В первый месяц жизни доминируют преимущественно бифидобактерии, очевидно, за счет молочного питания. Однако включение в рацион питания ребенка в 4–6 месяцев прикормов — твердой пищи, содержащей неперевариваемые полисахариды, приводит к доминированию клостридиальных видов — Lachnospiraceae, Clostridiaceae и Ruminococcaceae и резкому снижению бифидобактерий [6–7]. В возрасте 1–3 лет в структуре микробиоты кишечника детей доминируют Ruminococcaceae, Lachnospiraceae, Bacteroidaceae и Prevotellaceae [8], в этом периоде детства начинается формирование взрослого варианта энтеротипа [3]. Безусловно, на течение процессов формирования микробиоты кишечника ребенка влияют множество факторов: здоровье матери, способ рождения, характер питания, географические и экологические особенности проживания, прием антибиотиков, перенесенные инфекции и др. Отмечено, что микробиота кишечника у детей раннего возраста, в отличие от взрослых, в значительной степени подвержена выраженным изменениям под воздействием внешних факторов [4]. Вопросы «становления» микробиоты кишечника и ее изменений у детей первых месяцев и лет жизни сегодня имеют научный и практический интерес, ответы на них

будут способствовать углублению нашего представления о значении микробиоты в сохранении здоровья человека.

Цель исследования — изучение состава микробиоты кишечника у здоровых детей первого года жизни с использованием таргетного секвенирования гена 16S рРНК.

Материалы и методы

Пациенты

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом. Проведено однократное исследование микробиоты кишечника 11 здоровых детей первого года жизни (средний возраст детей составил $3,8 \pm 1,6$ месяцев). Все дети были рождены в Санкт-Петербурге. Грудное вскармливание получали 6 детей, смешанное — 2, искусственное — 3. Неблагоприятные факторы перинатального и постнатального анамнеза с возможным влиянием на микробиоту кишечника отмечены у 2 детей.

Секвенирование

Выделение тотальной ДНК из образцов фекалий проводили при помощи набора Genomic DNA Purification kit (Thermo Scientific, Литва). Библиотеки ДНК фрагментов генов 16S рРНК готовили по стандартному протоколу (16S Metagenomic Sequencing Library Preparation guide), рекомендованному производителем секвенатора MiSeq (Illumina, США) с использованием праймеров на V3 и V4 вариабельные регионы гена 16S рРНК.

Секвенирование библиотеки ампликонов осуществляли при помощи стандартного набора третьей версии 2x300bp (Illumina, США), согласно инструкциям производителя на приборе MiSeq (Illumina, США).

Анализ данных

Первичный анализ данных секвенирования с дальнейшей сортировкой и демультиплицированием по образцам был проведен на платформе Basespace (Illumina, США). Полученные последовательности гена 16S рРНК обрабатывались с использованием биоинформационного пакета QIIME v. 1.8.0. (<http://qiime.org/>) в соответствии с протоколом разработчика [9]. Также для анализа полученных ридов был использован онлайн-сервис MG-RAST (<http://metagenomics.anl.gov/>) с использованием базы данных SSU (SILVA small subunit rna database), содержащей нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК [10]. Выровненные последовательности были сгруппированы в операционные таксономические единицы OTU (operation taxonomic units) с 97% сходством. Неклассифицированные или химерные OTU были исключены из анализа. Для описания биоразнообра-

зия были вычислены стандартные критерии: количественное распределение OTU, α -разнообразие, индексы Шеннона и Чао 1.

Результаты и обсуждение

Подавляющее большинство (95%) нуклеотидных последовательностей было идентифицировано до уровня вида или рода; за OTU принимали вид или род микроорганизма. Суммарно по 11 образцам было идентифицировано 600 уникальных OTU, которые можно разделить, согласно современной номенклатуре прокариот, на 7 бактериальных фил (Phylum), 26 классов (Class), 49 отделов (Order), 84 семейства (Family) и 150 родов (Genus) бактерий. На каждый образец в среднем приходилось 190 ± 80 OTU, при этом максимальное и минимальное количество OTU составляли 300 и 90 соответственно.

Соотношение грамположительных и грамотрицательных, а также аэробных и анаэробных бактерий представлено на рисунке 1.

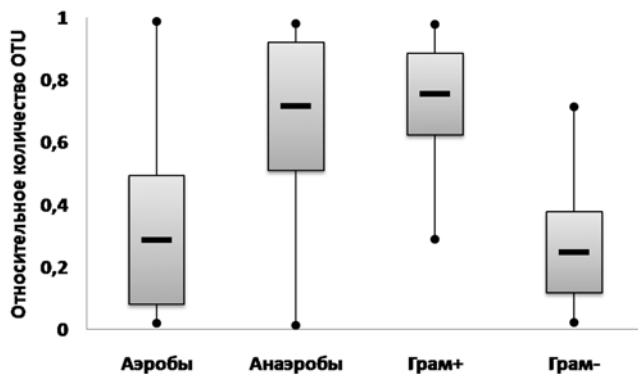


Рис. 1. Количественное соотношение аэробов/анаэробов и грамположительных/грамотрицательных микроорганизмов в исследуемых образцах фекалий здоровых детей первого года жизни. Верхняя и нижняя границы значений соответствуют максимальному и минимальному количеству OTU в исследуемых образцах, серые боксы с заливкой и горизонтальной чертой соответствуют среднему значению и 95% доверительному интервалу OTU

В целом, для детей рассматриваемой группы было характерно доминирование грамположительных анаэробных бактерий, на долю которых приходилось $71 \pm 23\%$. Два образца (№ 3 и № 5) отличались от такового распределения, в них преобладали грамотрицательные (30 – 71%) аэробные (73 – 98%) микроорганизмы. Анализ анамнестических данных показал наличие патологии течения беременности у матерей, а также прием антибиотиков у этих двух детей.

Детальный анализ распределения OTU на уровне таксономического ранга Phylum выявил наличие следующих бактериальных фил: Firmicutes,

Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria, Tenericutes и Lentisphaerae. Количественное распределение OTU представлено на рисунке 2.

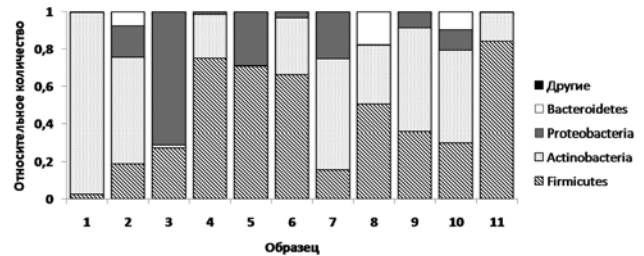


Рис. 2. Нормированное количественное распределение OTU на уровне бактериальных фил. Группа «Другие» включает Fusobacteria, Tenericutes и Lentisphaerae. По оси абсцисс – номера исследованных образцов фекалий; по оси ординат – нормированное количественное распределение OTU

По результатам анализа выявлено, что в среднем нормированном количественном отношении у детей первого года жизни доминировали Firmicutes ($43 \pm 15\%$), Actinobacteria ($38 \pm 10\%$) и Proteobacteria ($15 \pm 8\%$). Стоит отметить, что бактерии (фила Bacteroidetes) были представлены в гораздо меньшей степени, только в нескольких образцах (№ 2, № 8, № 10) их количество составляло 7 – 15%. Образцы (№ 3 и № 5), полученные от детей с неблагоприятными анамнестическими данными, характеризовались крайне низким количеством Actinobacteria, но, вместе с тем, высоким содержанием Proteobacteria (71 и 28% соответственно). Еще один образец (№ 1) также отличался от общего распределения фил за счет отсутствия Firmicutes и доминированием одной филы Actinobacteria (97%).

При анализе филы Firmicutes были выявлены доминирующие OTU бактерий на уровне родов. Так, в образцах преобладали *Clostridium* spp., *Blautia* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Veillonella* spp., *Robiensiella* spp., *Faecalibacterium* spp. и *Ruminococcus* spp. Обращало на себя внимание, что *Blautia* spp. в количественном отношении доминировала среди Firmicutes (35 – 80%), однако была не идентифицирована в нескольких образцах (№ 1, № 5, № 7, № 9). Указанные образцы характеризовались доминированием родов *Clostridium* spp. (в частности, *C. paraputrificum*) и *Veillonella* spp. В образце № 1 представители Firmicutes практически отсутствовали и были представлены только *Veillonella dispar* и различными видами стафилококков.

Образец № 5 отличался доминированием только одного представителя – *Enterococcus durans* (97% от числа всех Firmicutes). Интересно, что высокое количественное содержание Firmicutes часто кор-

релирует с таким неблагоприятным фактором, как ожирение [11]. Поскольку в настоящем исследовании нами не была проанализирована динамика изменения микробного сообщества, в этой связи было невозможно прогнозировать развитие каких-либо отклонений здоровья в будущем у детей.

Идентифицированные OTU в составе филы Actinobacteria включали преимущественно только Bifidobacterium spp. (97% от числа всех представителей данной филы). Например, в образце № 1 с максимальным количеством Actinobacteria были выявлены с высокой степенью идентичности последовательности рНК нескольких видов бифидобактерий — *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. tsurumiense*. В образцах с крайне низким содержанием актинобактерий (№ 3 и № 5), помимо бифидобактерий, были выявлены Actinomycetes spp. и Corynebacterium spp. В гораздо меньшей степени (1%) во всех образцах были выявлены представители *Rothia* spp.

Среди протеобактерий, которые в значительной степени представлены только в нескольких образцах (№ 3 и № 5), доминировали представители семейства Enterobacteriaceae (98%). В образце № 3 превалировала *Klebsiella pneumoniae* (95% от числа всех Proteobacteria), а в образце № 5 — *Acinetobacter calcoaceticus* (92%). В остальных образцах среди Enterobacteriaceae были идентифицированы *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. и в меньшей степени — *Escherichia* spp. Помимо энтеробактерий, также были выявлены семейства других представителей протеобактерий: Moraxellaceae, Shewanellaceae, Pseudomonadaceae.

Нами было отмечено, что характер питания влияет на количественное содержание Proteobacteria. Так, у детей, которые получали грудное вскармливание, в среднем доля этой филы была выше ($6 \pm 2\%$), по сравнению с детьми на искусственном вскармливании ($2 \pm 1\%$). Многочисленные исследования показывают, что тип питания оказывает существенное влияние на состав микробиоты у детей. Так, в исследованиях [12–14] отмечается, что у детей, получавших грудное вскармливание, доминировали бифидобактерии и энтеробактерии, при искусственном вскармливании таксономическое разнообразие и количественное содержание *Clostridium difficile* и таких родов, как: *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. и *Lactobacillus* spp.

Наименее представлены в количественном отношении среди анаэробных микроорганизмов представители Bacteroidetes, которые состояли преимущественно из *Bacteroides* spp. и *Parabacteroides* spp. Другие филы — Fusobacteria, Lentisphaerae и Tenericutes (микоплазмы), которые составляли в количественном отношении менее 1%, были представлены родом *Fusobacterium* spp.

и видом *Victivallis vadensis* соответственно. Дифференцировать микоплазмы до более высокого таксономического разрешения не удалось. Вышеперечисленные микроорганизмы колонизируют ротовую полость у взрослого человека, а также обнаруживаются в плаценте и амниотической жидкости у беременных женщин [15–16].

Оценивая таксономическое разнообразие, используя различные критерии его оценки, была обнаружена высокая вариация. Так, индексы Шеннона и Чао1 были в широких пределах: 1,5–4,2 и 150–583 соответственно. Нами было отмечено, что с увеличением возраста детей происходит увеличение таксономического разнообразия микробиоты кишечника (рис. 3).

Как видно из рисунка 3, в образцах, полученных от детей в возрасте 1 месяца жизни, критерий α -разнообразия варьировал от 3 до 7, у детей в возрасте 5–7 месяцев — от 10 до 17. От общего распределения отличались два образца (№ 3 и № 5), полученные от 3-месячных детей, которые характеризовались необычно высоким содержанием граммотрицательных и аэробных микроорганизмов и крайне низким содержанием бифидобактерий. В крупных исследованиях по изучению микробиоты человека, охватывавших Северную и Южную Америку, Европу, было показано, что дети первого года жизни характеризовались низким видовым разнообразием, а общее количество OTU было около 1000, в другой возрастной группе (2–3 года) количество идентифицированных OTU уже составляло порядка 2000 [6, 17].

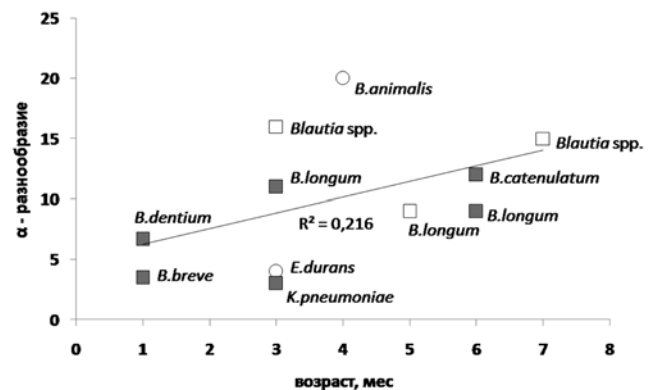


Рис. 3. Зависимость разнообразия микробиоты кишечника (критерий α -разнообразия) здоровых детей от возраста. Значения критерия α -разнообразия отражают таксономическую представленность разных микроорганизмов. В зависимости от вида вскармливания детей исследованные образцы фекалий имеют маркировку: квадрат с заливкой — грудное вскармливание, квадрат без заливки — искусственное вскармливание, круг — смешанное вскармливание. Приведенные названия микроорганизмов соответствуют доминирующим монотаксонам в образцах. Прямая линия отображает линейную аппроксимацию, представлен коэффициент корреляции (R^2)

Кроме того, нами было отмечено, что микробиота детей, получавших искусственное вскармливание, характеризовались наибольшим видовым разнообразием ($6,64 \pm 4$), по сравнению с детьми на грудном вскармливании ($13,3 \pm 3$). Анализируя доминирующие OTU на уровне видов, мы установили, что практически во всех образцах в виде моновариантов преобладали различные бифидобактерии и *Blautia* spp. Исключением из этого были два образца (№ 3 и № 5), где преобладали *E. durans* и *K. pneumoniae* соответственно.

Проведенное исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, малое количество исследуемых образцов не позволяет более детально анализировать влияние внешних факторов, прежде всего питания, на состав микробиоты. Во-вторых, анализ образцов фекалий однократного сбора и отсутствие мониторинга изменений состава микробиоты на протяжении определенного периода времени не позволяют сделать выводы о динамике состава микробиоты и о влиянии на нее негативных факторов внешней и внутренней среды организма. В-третьих, не учитывалось состояние микробиоты кишечника матери.

Заключение

Полученные результаты согласуются с современными представлениями о формировании микробиоты у человека в рассматриваемый возрастной период. В исследовании было выявлено в среднем 190 ± 80 OTU на образец, что может характеризоваться как низкое видовое разнообразие, по сравнению со старшим возрастным периодом, когда количество OTU может составлять более 1000. В целом, микробиота характеризовалась преобладанием грамположительных анаэробов – представителей Firmicutes (в частности, род *Blautia* spp.) и грамотрицательных анаэробов – *Veillonella* spp. и Actinobacteria (представлена бифидобактериями). Другие филы, в частности Bacteroidetes, представлены в меньшем количестве. Нами было отмечено, что состав микробиоты может меняться в зависимости от характера питания, однако малое количество изучаемых образцов достоверно не позволяет выявить возможные корреляции. Несомненно, что способ рождения, применение антибиотиков, наличие патологии беременности у матери и/или плода определенным образом влияют на формирование микробиоты кишечника ребенка. Так, у детей с неблагоприятными анамнестическими данными (прием антибиотиков и респираторные инфекции у матери в период беременности) наблюдалось снижение количества в значительной степени бифидобактерий и рост числа в одном случае – *K. pneumoniae*, в другом – доминирование одной филы Firmicutes.

Литература

1. Turrone F, Foroni E, Pizzetti P, Giubellini V, Ribbera A, Merusi P, Cagnasso P, Bizzarri B, de Angelis GL, Shanahan F et al: Exploring the diversity of the bifidobacterial population in the human intestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 2009, 75(6):1534-1545.
2. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012, 486(7402):207-214.
3. Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B: The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol* 2014, 5:427.
4. Gritz EC, Bhandari V: The human neonatal gut microbiome: a brief review. *Front Pediatr* 2015, 3:17.
5. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF: Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol* 2013, 21(4):167-173.
6. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE: Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108 Suppl 1:4578-4585.
7. Fallani M, Amarrì S, Uusijärvi A, Adam R, Khanna S, Aguilera M, Gil A, Vieites JM, Norin E, Young D et al: Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology* 2011, 157(Pt 5):1385-1392.
8. Lozupone CA, Stombaugh J, Gonzalez A, Ackermann G, Wendel D, Vazquez-Baeza Y, Jansson JK, Gordon JI, Knight R: Meta-analyses of studies of the human microbiota. *Genome Res* 2013, 23(10):1704-1714.
9. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Pena AG, Goodrich JK, Gordon JI et al: QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods* 2010, 7(5):335-336.
10. Keegan KP, Glass EM, Meyer F: MG-RAST, a Metagenomics Service for Analysis of Microbial Community Structure and Function. *Methods Mol Biol* 2016, 1399:207-233.
11. Million M, Lagier JC, Yahav D, Paul M: Gut bacterial microbiota and obesity. *Clin Microbiol Infect* 2013, 19(4):305-313.
12. Jain N, Walker WA: Diet and host-microbial crosstalk in postnatal intestinal immune homeostasis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015, 12(1):14-25.
13. Power SE, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF: Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr* 2014, 111(3):387-402.
14. Gomez-Llorente C, Plaza-Diaz J, Aguilera M, Munoz-Quezada S, Bermudez-Brito M, Peso-Echarri P, Martinez-Silla R, Vasallo-Morillas MI, Campana-Martin L, Vives-Pinera I et al: Three main factors define changes in fecal microbiota associated with feeding modality in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013, 57(4):461-466.
15. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J: The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014, 6(237):237ra265.
16. Ardisson AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, Rechcigl KT, Li N, Drew JC, Murgas-Torrazza R, Sharma R, Hudak ML, Triplett EW et al: Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PLoS One* 2014, 9(3):e90784.
17. Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP et al: Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012, 486(7402):222-227.

Авторский коллектив:

Гончар Наталья Васильевна – и.о. руководителя отдела кишечных инфекций, старший научный сотрудник Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; профессор кафедры педиатрии и неонатологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, д.м.н.; тел.: +7-921-369-32-97, e-mail: nvgonchar@yandex.ru

Бабаченко Ирина Владимировна – руководитель отдела респираторных (капельных) инфекций, ведущий научный сотрудник Детского научно-клинического центра инфекционных болезней; доцент кафедры инфекционных болезней у детей ФП и ДПО Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, д.м.н.; тел.: +7-921-579-96-51, e-mail: babachenko-doc@mail.ru

Гостев Владимир Валерьевич – научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии и эпидемиологии Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, к.б.н.; тел.: +7-905-220-97-41, e-mail: guestvv11@gmail.com

Ибрагимова Олеся Мунировна – младший научный сотрудник отдела респираторных (капельных) инфекций Детского научно-клинического центра инфекционных болезней, к.м.н.; тел.: +7-911-149-04-03, e-mail: ole_sya_ibr@bk.ru