

Нарушение микробиоты кишечника в остром периоде инфекционной диареи у детей и сравнительная оценка влияния последующей терапии нифуроксазидом и препаратами группы цефалоспоринов

Д.В.Усенко¹, А.В.Горелов¹, В.Е.Одинцова^{2,3}, Д.А.Каштанова^{3,4},
С.И.Кошечкин², А.В.Тягт^{2,5}, В.С.Крикун¹

¹Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

²Atlas Biomed Group – ООО «Кномикс», Москва, Российская Федерация;

³Atlas Biomed Group – ООО «Атлас», Лондон, Великобритания;

⁴Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация;

⁵Центр высокоточного геномного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Москва, Российская Федерация

Микробиом кишечника играет важную роль в поддержании гомеостаза человеческого организма. Изменение состава микробного сообщества ассоциировано со многими заболеваниями. В частности, при острых кишечных инфекциях микробиота может играть роль в патогенезе воспалительного процесса. Лекарственные препараты по-разному влияют на количественный и качественный состав микробного сообщества и могут таким образом опосредованно влиять на ход выздоровления.

Цель. Оценить состав микробиоты кишечника в остром периоде инфекционной диареи у детей и влияние на него последующей терапии нифуроксазидом и препаратами группы цефалоспоринов.

Пациенты и методы. В исследование был включен 21 больной острой кишечной инфекцией «инвазивного» типа ребенок, из которых 12 детей в дальнейшем получали терапию нифуроксазидом (группа ИН), а 9 – цефалоспоринами 3-го поколения (группа ИЦ). Группу контроля составили 10 здоровых детей (группа К). Длительность курса антибактериальной терапии составила 5–7 дней. Для всех участников исследования было проведено исследование микробного состава образцов кала с использованием высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК. Анализ данных был проведен на платформе «Кномикс-Биота» и в среде программирования R.

Результаты. Уже в раннем периоде острой «инвазивной» кишечной инфекции у детей регистрируется снижение альфа-разнообразия – интегральной характеристики микробного сообщества, оценивающей количество видов в нем и равномерность их относительной представленности. Также наблюдается повышение суммарной доли бактерий-оппортунистов по сравнению со здоровыми детьми. Наиболее выражено было повышение представителей семейства *Fusobacteriaceae*. После лечения альфа-разнообразие восстановилось только в группе, принимавшей нифуроксазид. Различия в динамике представленности условно патогенной микрофлоры в интервенционных группах были обусловлены изначальным различием микробиома между группами, связанным с их небольшой численностью. В группе ИН доля семейства *Fusobacteriaceae* до начала лечения была выше, чем у здоровых детей, но сразу после лечения и через 1 мес после его окончания не отличалась от характерной для здоровых детей. Группа ИЦ до начала лечения отличалась от здоровых детей только большей долей бактерий-оппортунистов; к концу лечения этот показатель восстановился до значений, характерных для здоровых детей.

Заключение. Применение нифуроксазида в терапии острой кишечной инфекции «инвазивного» типа у детей сопровождается восстановлением важного интегрального показателя состава микробиоты – альфа-разнообразия, а также сокращением доли условно патогенных семейств (в частности, *Fusobacteriaceae*). В группе сравнения, принимавшей цефалоспорины, доля условных патогенов также снижалась, но восстановления альфа-разнообразия не наблюдалось.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции, дети, антибактериальная терапия, нифуроксазид, цефалоспорины, микробиота кишечника, 16S рРНК секвенирование

Для цитирования: Усенко Д.В., Горелов А.В., Одинцова В.Е., Каштанова Д.А., Кошечкин С.И., Тягт А.В., Крикун В.С. Нарушение микробиоты кишечника в остром периоде инфекционной диареи у детей и сравнительная оценка влияния последующей терапии нифуроксазидом и препаратами группы цефалоспоринов. *Инфекционные болезни.* 2020; 18(3): 88–96. DOI: 10.20953/1729-9225-2020-3-88-96

Для корреспонденции:

Усенко Денис Валериевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, заведующий образовательным центром (Москва)

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а,
Телефон: (495) 672-1136
E-mail: dusenko@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5232-7337>

Статья поступила 29.07.2020 г., принята к печати 28.09.2020 г.

For correspondence:

Denis V. Usenko, MD, PhD, DSc, leading scientific researcher of Clinical Department of Infectious Pathology of Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing

Address: 3a Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russian Federation
Phone: (495) 672-1136
E-mail: dusenko@rambler.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5232-7337>

The article was received 29.07.2020, accepted for publication 28.09.2020

Impairments of the intestinal microbiota in the acute period of infectious diarrhea in children and comparative analysis of the effects of nifuroxazide and cephalosporins

D.V.Usenko¹, A.V.Gorelov¹, V.E.Odintsova^{2,3}, D.A.Kashtanova^{3,4}, S.I.Koshechkin², A.V.Tyakht^{2,5}, V.S.Krikun¹

¹Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;

²Atlas Biomed Group – Knomics LLC, Москва, Russian Federation;

³Atlas Biomed Group – Atlas LLC, London, Great Britain;

⁴Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russian Federation;

⁵Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Moscow, Russian Federation

The intestinal microbiota (IM) plays an important role in maintaining homeostasis in the human organism. Changes in the IM are associated with many diseases, for example, IM is involved in the pathogenesis of inflammation during acute intestinal infections (AIs). Medications have different effects on the quantitative and qualitative composition of the microbial community and can therefore indirectly affect the course of recovery.

Objective. To evaluate the IM composition in the acute period of infectious diarrhea in children and to assess the effect of therapy with nifuroxazide and cephalosporins on it.

Patients and methods. This study included 21 children with invasive AIs. Twelve patients received nifuroxazide (IN group), whereas 9 patients were treated with third-generation cephalosporins (IC group). There was also a control group comprised of 10 healthy children (group C). The duration of the course of antibacterial therapy was 5–7 days. We analyzed the microbial composition of fecal specimens from all study participants using 16S rRNA gene high-throughput sequencing. Data analysis was performed using the Knomics-Biota platform and the R Programming Environment.

Results. We observed reduced alpha diversity (an integral characteristic of a microbial community which estimates the number of species in it and their proportion) already in the early period of invasive AI in children. We also found an increased total proportion of opportunistic bacteria in children with AIs compared to controls, particularly species of *Fusobacteriaceae*. Restoration of alpha diversity was achieved only in patients receiving nifuroxazide. Differences in the dynamics of the proportion of opportunistic microflora in the intervention groups were associated with the initial differences in the microbiome composition between the groups due to small number of patients in them. In the IN group, the proportion of *Fusobacteriaceae* species before treatment was higher than that in healthy controls; however, immediately after treatment completion and one month later, there were no differences in the IM composition between the IN group and controls. Patients from the IC group had higher proportion of opportunistic bacteria than healthy children; by the end of the treatment course, this parameter was normalized and was similar to that in the control group.

Conclusion. The use of nifuroxazide in children with invasive AIs was associated with restoration of alpha diversity and the reduction in the proportion of opportunistic species (in particular, *Fusobacteriaceae*). Children receiving cephalosporins also demonstrated the reduction in this proportion, but their alpha diversity was not restored.

Key words: acute intestinal infections, children, antibacterial therapy, nifuroxazide, cephalosporins, intestinal microbiota, 16S rRNA gene sequencing

For citation: Usenko D.V., Gorelov A.V., Odintsova V.E., Kashtanova D.A., Koshechkin S.I., Tyakht A.V., Krikun V.S. Impairments of the intestinal microbiota in the acute period of infectious diarrhea in children and comparative analysis of the effects of nifuroxazide and cephalosporins. *Infekc. bolezni (Infectious diseases)*. 2020; 18(3): 88–96. (In Russian). DOI: 10.20953/1729-9225-2020-3-88-96

Среди инфекционной патологии у детей и взрослых острые кишечные инфекции (ОКИ) стойко занимают одно из ведущих мест во всем мире. В общей структуре инфекционных заболеваний они занимают второе место после острых респираторно-вирусных инфекций и гриппа, а также составляют более 40% всех госпитализированных больных [1]. Таким образом, это представляет серьезную проблему в педиатрической практике, которая усложняется достаточно высокой смертностью от кишечных инфекций, особенно в раннем детском возрасте. По материалам ВОЗ, ежегодно регистрируется около 1,7 млрд случаев диареи во всем мире. В развивающихся странах дети в возрасте до трех лет болеют диареей в среднем три раза в год.

При этом ОКИ сохраняют второе место по значимости в структуре детской смертности в возрасте до пяти лет – ежегодно от нее умирает порядка 760 тыс. детей [2, 3].

Изменение микробиоценоза кишечника является одним из ключевых факторов патогенеза воспалительного процесса при острых кишечных инфекциях и может играть немаловажную роль в особенностях развития заболевания, тяжести течения и возникновении осложнений [4].

Сегодня очевидно, что совокупность микроорганизмов – микробиом – представляет собой огромный микробный «орган» человека, который не уступает по функциональной значимости другим органам [5]. Микробиоценоз кишечника человека играет важную роль в поддержании гомеостаза ор-

ганизма, в функции которого входят: колонизационная резистентность (межвидовой антагонизм, активация иммунной системы); детоксикация (гидролиз продуктов метаболизма: белков, углеводов, жиров); синтетическая (синтез витаминов, гормонов, антибиотических веществ); пищеварительная (ферментативная, регуляция всасывания, регуляция моторики) [6]. Однако микробиоценоз кишечника может быть подвержен изменениям при патологических состояниях, которые приводят к изменению доли участия микроорганизмов в физиологических процессах. Возникает дисбаланс в снабжении других органов зависимыми от микробов веществами, нарушается гомеостаз метаболических процессов, стабильность иммунной системы [7]. Если возмущение превосходит компенсаторные ресурсы организма, это может привести к увеличению вероятности реализации негативных функций микробиоценоза, таких как: становление источником эндогенной инфекции (гнойно-септических и других болезней); сенсбилизация (в виде аллергических проявлений); сохранение плазмидных генов (формирование патогенных клонов); мутagenная активность (возникновение и развитие опухолей) [6].

В отличие от взрослых, у детей для микробиоценоза кишечника в целом характерна меньшая устойчивость в первые 3–5 лет жизни, когда он находится на стадии формирования [5], в связи с чем обладает высокой индивидуальной вариабельностью видового состава, в особенности у детей 1 года [8]. Нарушение баланса микробиоценоза на данном этапе развития может в дальнейшем иметь если и не манифестные, «стертые» в ближайшей перспективе, то непредсказуемые и далеко идущие последствия для здоровья ребенка. Это становится особенно актуальным при внешнем стрессорном воздействии на систему микробиоценоза, в частности при острых кишечных инфекциях [4].

Внедрение новейших методов молекулярно-генетического анализа значительно расширило представление о составе и функциях кишечного микробиоценоза. Стало очевидно, что полученные с использованием бактериологического метода исследования в прошлые годы данные по составу микробиоты и ее изменению при различных заболеваниях и состояниях отражают лишь «верхушку айсберга», в то время как разнообразие населяющих организм человека микроорганизмов огромно [9]. Этот скрытый биоценоз удалось обнаружить лишь благодаря современным методам метагеномного секвенирования [10], а метод оценки состояния микробиоценоза ЖКТ на основе секвенирования 16S рПНК бактерий в образцах кала можно считать оптимальным для определения состава микробиоты кишечника.

Новые методы изучения микробиоценоза находятся на стадии разработки и внедрения, отсутствует клиническое осмысление полученных данных, однако именно они открывают новые перспективы более глубокого понимания микробного взаимодействия, в том числе роли состояния микробиоценоза при развитии острых кишечных инфекций у детей, а также своевременной коррекции сдвига микробиоценоза, возникшего, с одной стороны, на фоне агрессивного воздействия внешнего возбудителя, с другой, – на фоне проведения антибактериальной терапии.

Проведение данного исследования представляется актуальным, т.к. до настоящего времени на территории России

не было проведено работ, посвященных оценке состояния микробиоценоза при острых кишечных инфекциях посредством генетических анализов. Отсутствует оценка характера течения, нет ясности в вопросе о влиянии степени изменений микробиоценоза на прогноз болезни, длительность процесса, формирование возможных осложнений.

Цель исследования – оценить нарушения микробиоты кишечника в остром периоде инфекционной диареи у детей и влияние на нее последующей терапии нифуроксазидом и препаратами группы цефалоспоринов.

Пациенты и методы

Исследование проводилось в 2018–2019 гг. на базе ИКБ №2 Департамента здравоохранения г. Москвы, было одобрено локальным этическим комитетом ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

До включения в исследование родители участников были ознакомлены с информацией об исследовании и подписывали форму информированного согласия. Включались пациенты обоего пола в возрасте от 6 мес до 14 лет, госпитализированные в первые 1–4 дня заболевания с симптомами, типичными для острого гастроэнтероколита/энтероколита. При первичном осмотре проводился сбор анамнеза, объективный осмотр с оценкой симптомов ОКИ. При соответствии критериям включения и отсутствии критериев невключения пациент включался в исследование и рандомизировался методом «конвертов» в одну из двух исследуемых групп:

1. Группа ИН – пациенты ($n = 12$), получавшие противомикробную терапию препаратом нифуроксазид (Энтерофурил), в дозировке: детям 6 мес – 3 лет – 100 мг нифуроксазида (2,5 мл суспензии) 3 раза в сутки, детям 3–6 лет – по 200 мг нифуроксазида (5 мл суспензии) 3 раза в сутки, детям 6–18 лет – по 200 мг нифуроксазида (5 мл суспензии) 4 раза в сутки.

2. Группа ИЦ – пациенты ($n = 9$), получавшие противомикробную терапию препаратом из группы цефалоспоринов (цефтриаксон, в дозировке 50 мг/кг/сут, или цефотаксим, в дозировке 100 мг/кг/сут).

В рамках обследования при госпитализации, для определения этиологии ОКИ перед началом антибактериальной терапии проводился забор фекалий для проведения молекулярно-генетического исследования с помощью тест-системы для выявления и дифференциации ДНК/РНК аденовирусов группы F, ротавирусов группы А, норовирусов 2-го генотипа, астровирусов, микроорганизмов рода *Shigella*, энтероинвазивных *E. coli*, *Salmonella* и термофильных *Campylobacter* в клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ОКИ скрин-FL». Также проводилось бактериологическое исследование (посев) фекалий на наличие патогенных энтеробактерий.

Для исследования состава микробиоты кишечника с использованием 16S рПНК секвенирования у всех участников исследования производился забор образцов фекалий до начала антибактериальной терапии, а также на 5–7 день антибактериальной терапии. В группе ИН спустя 23–25 дней

Таблица 1. Длительность основных клинических симптомов острой кишечной инфекции в группах сравнения после начала антибактериальной терапии (в сутках)
 Table 1. Duration of the main clinical symptoms of acute intestinal infections in the groups compared after the initiation of antibacterial therapy (days)

Параметры сравнения / Parameters compared	Дети, получавшие препарат нифуроксазид / Children who received nifuroxazide (n = 12)					Дети, получавшие препарат группы цефалоспоринов / Children who received cephalosporins (n = 9)				
	m	sd	med	max	min	m	sd	med	max	min
Температура выше 37,0°C / Fever >37.0°C	1,5	1,7	1,2	4	0	3,0	3,4	0,9	5,0	2,0
Рвота / Vomiting	1	0,8	0,6	2	0	2,0	2,2	1,0	5,0	0,0
Диарея / Diarrhea	3	3,6	1,1	4	2	5,0	5,2	1,4	8,0	2,0
Интоксикация / Intoxication	1,5	1,8	0,8	3	1	4,0	4,6	1,9	9,0	2,0
Экзикоз / Exsiccosis	1	1,0	0,2	2	0	2,0	1,9	0,6	3,0	1,0
Боли в животе / Abdominal pain	3	3,0	1,2	4	0	4,0	4,2	0,7	5,0	3,0

m – среднее, sd – стандартное отклонение, med – медиана, max – максимальное значение, min – минимальное значение.
m – mean, sd – standard deviation, med – median, max – maximum, min – minimum.

от момента окончания антибактериальной терапии проводился дополнительный забор образца фекалий.

Для проведения сопоставления результатов секвенирования микробиоты кишечника была сформирована третья группа – условно здоровые участники (группа контроля), критериями включения для которых были:

- отсутствие симптомов ОКИ или клинической картины других острых инфекционных заболеваний в течение месяца, предшествующего включению в исследование;
- отсутствие сведений о применении антибиотиков или пробиотиков в течение 3 мес. до включения в исследование.

В исследование не включались пациенты с сопутствующей хронической инфекционной патологией (хронические гепатиты, ВИЧ-инфекция) и/или тяжелой сопутствующей соматической патологией (пороки развития, детский церебральный паралич, сахарный диабет, сердечная недостаточность и др.).

Больные ОКИ наряду с антибактериальной терапией получали патогенетическую-регидратационную и энтеросорбционную (диосмектит, полиметилсилоксана полигидрат) терапию. По показаниям и/или в случае развития осложнений врач назначал посиндромную терапию – парентеральное введение средств с целью регидратации и дезинтоксикации, жаропонижающие средства (парацетамол/ибупрофен, метамизол натрия), спазмолитические препараты.

Клиническое наблюдение за пациентами проводилось ежедневно в течение всего периода госпитализации – 5–10 суток. Ежедневно врач-исследователь проводил сбор жалоб, объективный осмотр (с оценкой симптомов заболевания и характеристик стула), контроль и оценку терапии (табл. 1). Контрольное исследование фекалий на наличие патогенных энтеробактерий проводилось через 1–3 дня после завершения антибактериальной терапии, при наличии первичного подтверждения бактериальной этиологии острого гастроэнтероколита/энтероколита.

Протоколом исследования была предусмотрена возможность исключения пациентов из исследования при невозможности или отказе пациента, его родителей/усыновителей следовать предписанному плану лечения, составленному согласно требованиям МЭС; непредоставлении пациентом или его родителями/усыновителями исследуемого материала в предписанные данным исследованием сроки; желаний пациента или его родителя/усыновителя досрочно завершить исследование по любой причине, а также при возникновении нежелательного явления (НЯ), требующего отмены исследуемого препарата.

Характеристика пациентов

Всего были включены и рандомизированы 21 больной ОКИ ребенок (группа интервенции И, состоящая из групп ИЦ и ИН) и 10 условно здоровых детей (группа контроля К).

Таблица 2. Клинические характеристики участников исследования
 Table 2. Clinical characteristics of the study participants

Показатель / Parameter	Дети, получавшие нифуроксазид (группа ИН) / Children who received nifuroxazide (IN group) (n = 12)	Дети, получавшие препарат группы цефалоспоринов (группа ИЦ) / Children who received cephalosporins (IC group) (n = 9)	Здоровые дети (группа К) / Healthy children (group C) (n = 10)
Возраст, лет / Age, years	3,8 ± 1,4	4,6 ± 2,0	4,6 ± 1,8
Число мальчиков, n (%) / Number of boys, n (%)	3 (33,3)	8 (66,7)	4 (40,0)
ИМТ, кг/м ² / BMI, kg/m ²	17,3 ± 1,6	16,8 ± 2,5	16,4 ± 2,2
Наличие крови в стуле, n (%) / Blood in stool, n (%)	4 (41,6)	3 (33,3)	0
Наличие слизи в стуле, n (%) / Mucus in stool, n (%)	12 (100)	9 (100)	0
Рвота, n (%) / Vomiting, n (%)	12 (100)	9 (100)	0
Сроки госпитализации от начала заболевания, сут / Time from symptom onset to hospitalization, days	1,7 ± 0,7	1,9 ± 0,6	–
<i>Salmonella</i> spp, n (%)	3 (33,3)	4 (44,4)	0
<i>Shigella</i> spp, n (%)	1 (16,7)	2 (22,2)	0
Сочетанная вирусно-бактериальная / Combined viral and bacterial infection	2 (25)	2 (22,2)	0
Возбудитель не идентифицирован / Pathogen is not identified	2 (25)	3 (33,3)	0
Длительность стационарного лечения / Length of hospital stay	4,7 ± 2,1	6,7 ± 1,5	–

Клинические характеристики выборки представлены в табл. 2. В табл. 1 собраны сведения о длительности у пациентов основных клинических симптомов ОКИ. Средний возраст пациентов в группе ИН составил $3,8 \pm 1,4$ года, в группе ИЦ – $4,6 \pm 2,0$ года и не отличался достоверно от группы контроля ($4,6 \pm 1,8$ лет, тест Стьюдента, $p < 0,05$). Доля мальчиков была наибольшей в группе ИЦ – 66,7%. Несмотря на то, что в группе ИН и группе К доли мальчиков была значительно ниже (36,6 и 40% соответственно), данный факт не играет решающего значения в дальнейшем анализе, учитывая близкий средний возраст сравниваемых групп больных, а также отсутствие различий в антропометрических показателях (индекс массы тела).

Госпитализация пациентов интервенционной группы И происходила в среднем на $1,76 \pm 0,8$ суток и не имела существенных различий между сравниваемыми группами ИН и ИЦ. Все пациенты при включении в исследование имели клинические проявления, характерные для инвазивной диареи, в том числе «колитный» стул (в 100%), примеси слизи и крови в стуле (гемоколит у 41,6 и 33,3% детей), в сочетании с другими симптомами, типичными для ОКИ. Исходная частота стула составила $5,9 \pm 2,4$ эпизодов в сутки в группе ИН и $6,7 \pm 1,9$ в группе ИЦ.

По результатам молекулярно-генетических (ПЦР) и бактериологических исследований наиболее частой причиной ОКИ была *Salmonella* spp. (как моноинфекция выявлена у 33,3% пациентов группы ИН и 44,4% группы ИЦ, в комбинациях с вирусами – у 25 и 22,2% пациентов соответственно). Шигеллы были выявлены у 16,7 и 22,2% больных групп ИН и ИЦ соответственно. Из общего числа всех включенных пациентов у 6 (по 3 человека в каждой из сравниваемых групп больных) идентифицировать возбудителя не удалось.

ДНК-анализ микробиоты

Выделение ДНК из образцов фекалий производилось с помощью наборов QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen). Концентрация ДНК измерялась с помощью Qubit dsDNA HS assay на приборе Qubit 2.0 (ThermoFisher Scientific). После амплификации фрагмента V3-V4 прокариотического гена 16S рРНК и подготовки библиотек было проведено высокопроизводительное секвенирование на приборах Illumina MiSeq и HiSeq. Для анализа были использованы одиночные риды R1, обрезанные с 3'-конца до среднеминимальной по партиям длины, составившей 250 нуклеотидов.

Анализ данных

Анализ данных по составу микробиоты был проведен с помощью платформы Кномикс-Биота (<https://biota.knomics.ru>) [11]. Первичные данные секвенирования (риды) были предобработаны с использованием программного пакета QIIME2 [12]. К ридам был применен алгоритм DADA2 [13] для очистки от шумоподобных прочтений и получения представленности уникальных представительных последовательностей с точностью до 1 нуклеотида. После классификации все образцы были прорежены до 3000 ридов. Таблицы относительной представленности на уровне семейства были получены путем суммирования представ-

ленности последовательностей, принадлежащих соответствующему семейству.

Дополнительный анализ данных был проведен с помощью языка R [14]. Для того чтобы оценить изменения в микробиоме, ассоциированные с заболеванием и терапией, была проанализирована относительная представленность семейств бактерий-оппортунистов как в отдельности, так и суммарно – эти величины характеризуют степень отклонения состава микробиоты от наблюдаемого у здоровых детей. Для каждого образца было оценено разнообразие микробного сообщества (альфа-разнообразие) с помощью индекса Шеннона. Данный индекс тем выше, чем более равномерно представлены уникальные последовательности нуклеотидов в сообществе. Ввиду небольшого размера выборки, а также того, что анализировалась относительная представленность бактериальных семейств только из заранее определенного списка, поправка на множественное сравнение не применялась.

Результаты исследования и их обсуждение

Данные 16S рРНК секвенирования микробиоты

После первичной предобработки ридов глубина покрытия составила в среднем 235 (от 52 до 360) тыс. ридов на образец. После фильтрации по качеству, удаления шумовых последовательностей с помощью DADA2 и картирования на базу GreenGenes осталось в среднем 27 (от 7 до 60) тыс. ридов на образец. Чтобы избежать влияния естественной вариабельности глубины секвенирования на результаты анализа, риды были случайным образом прорежены до 3 тыс. на образец. Всего по совокупности образцов была детектирована 1731 уникальная микробная последовательность. После суммирования ридов, принадлежащих одинаковым таксонам, было детектировано 26 отделов бактерий, в их числе 337 видов, 290 родов, 172 семейства, 102 порядка и 59 классов.

Различия в составе микробиоты кишечника между больными детьми до начала лечения и здоровых детей

Ряд исследований указывает на прямую ассоциацию между разнообразием кишечного сообщества и здоровьем человека. Альфа-разнообразие представляет собой численную характеристику разнообразия видов в некоторой экологической нише. Существует несколько способов измерения альфа-разнообразия. В данном исследовании был использован индекс Шеннона, который позволяет оценить не только количество детектированных таксонов в образце, но и равномерность уровней их представленности. Снижение индекса Шеннона ассоциировано с различными заболеваниями и может сигнализировать как о снижении численности видов, так и о разрастании одного или нескольких видов бактерий в ущерб представленности других видов. Таким образом, альфа-разнообразие, и индекс Шеннона в частности, может использоваться в качестве суммарной характеристики состояния кишечной микрофлоры, описывая сложную структуру одним числом. Как правило, такая характеристика позволяет делать выводы на небольших выборках, что

Таблица 3. Относительная представленность избранных оппортунистических семейств у детей с ОКИ до лечения и у здоровых детей в сопоставлении
 Table 3. Frequency of certain families of opportunistic bacteria in children with AIs and healthy controls

Семейства / Families	p-value	Дети с ОКИ до лечения / Children with AIs before treatment (n = 21)					Здоровые дети / Healthy children (n = 10)				
		m, %	sd, %	med, %	max, %	min, %	m, %	sd, %	med, %	max, %	min, %
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,1225	29,83	36,43	7,7	92,63	0	12,85	18,49	1,23	46,93	0
<i>Enterococcaceae</i>	0,3283	9,4	29,13	0	99,37	0	4,81	15,02	0	47,57	0
<i>Veillonellaceae</i>	0,6082	11,21	15,94	7,43	74,7	0	9,82	8,08	8,53	24,47	0,17
<i>Aeromonadaceae</i>	0,2673	0,23	1,04	0	4,77	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcaceae</i>	0,552	1,06	2,56	0,2	10,33	0	0,91	2,27	0,15	7,33	0
<i>Moraxellaceae</i>	0,1162	0,05	0,16	0	0,67	0	0	0	0	0	0
<i>Fusobacteriaceae</i>	0,0354*	0,14	0,29	0	1,1	0	0	0	0	0	0

*Статистически значимой детекции ($p < 0,05$).
 *Significant differences ($p < 0,05$).

может быть затруднительно при анализе относительной представленности всех таксонов по отдельности ввиду недостаточной мощности.

Альфа-разнообразие микробиоты участников с ОКИ (группа И) до начала лечения было статистически значимо снижено по сравнению со здоровыми детьми группы К ($p = 0,0036$). Такое снижение на фоне кишечной инфекции может быть связано как с увеличением представленности отдельных бактериальных таксонов, так и со снижением уровня некоторых таксонов вследствие диареи, воспалительных процессов и изменениями питания.

Для того чтобы оценить вклад увеличения доли бактерий-оппортунистов в снижение альфа-разнообразия, был проведен анализ представленности каждого из отдельных

бактериальных условно патогенных семейств: *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Veillonellaceae*, *Aeromonadaceae*, *Streptococcaceae*, *Moraxellaceae*, *Fusobacteriaceae*. Для каждого семейства для того, чтобы проверить гипотезу о его более высокой медианной представленности у больных детей до лечения по сравнению со здоровыми детьми, был вычислен односторонний критерий Вилкоксона (табл. 3). Поправка на множественное сравнение при этом не применялась.

Представленность *Fusobacteriaceae* была значимо выше у детей с ОКИ ($p = 0,0354$) (табл. 3). Данный род не детектировался ни у одного из здоровых детей, но наблюдался у 6 пациентов группы И до лечения. Представленность других семейств между группами К и И статистически значимо не различалась. Однако рассмотрение наиболее представленных бактериальных семейств в каждом образце показало, что имеют место спорадически высокие представленности отдельных редких оппортунистических семейств (табл. 3). Это говорит о разнообразном характере нарушений баланса микробиоты кишечника, потенциально ассоциированного с ОКИ у детей. Вследствие этого, а также малого размера выборок статистический анализ на уровне отдельных таксонов обладает пониженной чувствительностью к детекции дисбиотических изменений микробиоты. Исходя из этой особенности данных, с целью повышения чувствительности сравнения, была проанализирована суммарная доля уровней относительной представленности вышеперечисленных семейств (суммированы внутри каждого образца), и ее отношение к доле остальных – комменсальных (за исключением нескольких таксонов, отнесенных к техногенным контаминантам). Было обнаружено, что отношение доли условно патогенных семейств к доле комменсальных микроорганизмов было значимо снижено у детей с ОКИ ($36,8 \pm 1,38$ у детей с ОКИ, $0,96 \pm 0,84$ у здоровых детей, односторонний тест Вилкоксона, $p = 0,0361$) (рис. 1).

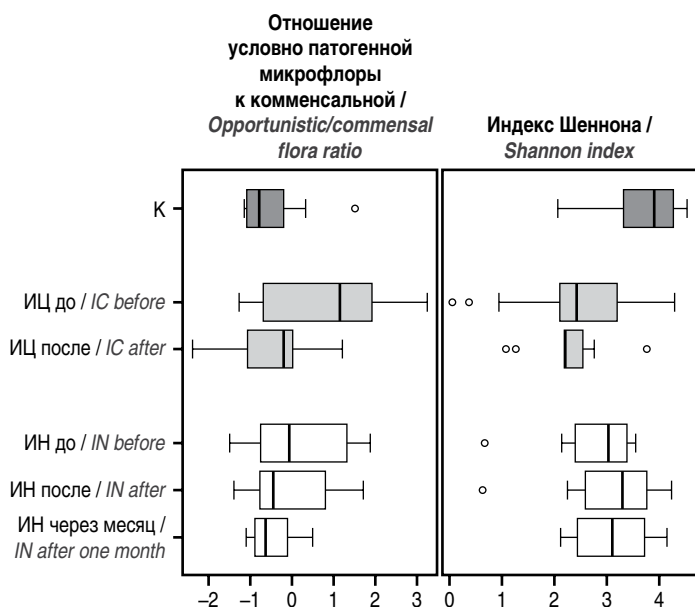


Рис. 1. Динамика логарифма отношения доли условно патогенных и комменсальных семейств, а также альфа-разнообразия (индекса Шеннона) в микробиоте участников двух интервенционных групп в сравнении со здоровым контролем. ИН – интервенционная группа, принимавшая нифуроксазид, ИЦ – принимавшая цефалоспорины, К – контрольная группа здоровых детей

Fig. 1. Dynamics of the logarithm of the opportunistic/commensal flora ratio and diversity index (Shannon index) for the intestinal microbiota in the two intervention groups compared to healthy controls. IN – intervention group receiving nifuroxazide; IC – group receiving cephalosporins; C – healthy controls.

Изменения микробиоты, ассоциированные с приемом нифуроксазида

Индекс Шеннона пациентов группы ИН был значимо ниже значений, характерных для группы здоровых детей ($p = 0,0044$). На фоне приема нифуроксазида его значение выросло ($p = 0,0024$) и перестало статистически значимо отличаться от альфа-разнообразия участников контрольной группы

($p = 0,1593$). В группе ИН через 1 мес после выписки из стационара индекс Шеннона значимо не изменился ($p = 0,9453$), не отличаясь при этом от значений показателя в группе здоровых детей ($p = 0,2370$).

Так же как и в группе И до начала лечения, в подгруппе, принимавшей нифуроксазид, наблюдалось повышение доли семейства *Fusobacteriaceae* относительно представленности микроорганизма в микробиоте детей группы контроля ($p = 0,0139$, критерий Манна–Уитни). Как сразу после, так и через 1 мес после окончания лечения значимых отличий в представленности микроорганизма между К и И не было ($p > 0,05$). Снижение доли этого семейства в образцах участников группы ИН за время лечения было близким к статистически значимому ($p = 0,0528$, парный критерий Вилкоксона при сравнении образцов, взятых до и сразу после окончания интервенции).

Отличий в представленности других семейств условно патогенных бактерий у детей группы ИН и здоровых детей не наблюдалось. Также в группе ИН не было выявлено изменений доли этих микроорганизмов во времени.

Анализ доли условных патогенов в логарифмической шкале в группе ИН не показал значимого изменения этого соотношения ни в одной из временных точек по сравнению со здоровыми участниками ($p > 0,05$) (рис. 1). Отличие от здоровых детей по этому признаку в первой точке было близко к порогу значимости ($p = 0,0797$). Анализ динамики этого показателя внутри самой группы ИН не обнаружил статистически значимого уменьшения его со временем.

Изменения микробиоты, ассоциированные с приемом цефалоспоринов

Альфа-разнообразие микробиоты кишечника детей из группы ИЦ до начала лечения было снижено по сравнению с показателем у здоровых детей ($p = 0,0014$) (рис. 1). В отличие от группы ИН, разнообразие микробиоты у этой группы не восстановилось за время лечения: статистически значимых изменений после лечения не выявлено ($p = 0,25$); значимое снижение по сравнению со здоровым контролем сохранилось ($p = 0,0117$).

В начальной точке ни для одного из условных патогенов его доля не была выше у группы ИЦ по сравнению со здоровыми ($p > 0,05$) (рис. 1). Вероятно, это обусловлено небольшим количеством участников исследования: участники групп, получавшие различное лечение, отличались друг от друга уже в начальной точке. При проверке гипотезы о снижении представленности этих таксонов во времени при приеме цефалоспоринов было выявлено значимое уменьшение *Enterobacteriaceae* ($p = 0,0488$). Однако отличий от здорового контроля не было в представленности ни одного из изученных семейств ни в одной временной точке. Это может свидетельствовать о небольшом размере эффекта снижения доли этого семейства.

Доля условных патогенов по отношению ко всем остальным таксонам была статистически значимо выше у больных детей до начала лечения в сравнении с аналогичным показателем у здоровых детей ($p = 0,0488$). Однако она снизилась в ходе лечения до значений, характерных для здоровых детей ($p = 0,0273$).

Исследование состава микробиоты методами 16S рПНК секвенирования открывает новые возможности для изучения процессов, протекающих при ОКИ в кишечнике и в организме в целом, так как изменения в одном эпителиоцеоне провоцируют нарушения микробиома в целом. В данной работе представлены результаты исследования взаимосвязи разнообразия и состава кишечного микробиома у детей при острых кишечных инфекциях «инвазивного» типа, а также проведено сравнение изменений, происходящих в ходе лечения ОКИ нифуроксазидом и цефалоспоридами. Уникальность выборки состоит в том, что пациенты не принимали антибиотики в течение 3 мес до интервенции, а в ходе лечения были госпитализированы. Это позволяет исключить искажение результатов за счет лечения в домашних условиях и оценить вклад в изменение конкретной терапии, а также различия в питании.

Сравнение микробиоты детей с ОКИ до начала лечения (т.е. первые 1–3 дня заболевания) и здоровых детей свидетельствует о дисбиозе, ассоциированном с инфекцией: разнообразие сообщества было снижено, а доля бактерий-оппортунистов по отношению к комменсальной микрофлоре повышена. При этом повышение доли бактерий-оппортунистов было обусловлено не одним семейством, а для каждого индивидуума своими. Наиболее выражено было повышение представленности семейства *Fusobacteriaceae*. Из литературы известно, что некоторые представители данного семейства ассоциированы с воспалительными заболеваниями ЖКТ [15–17].

Наиболее заметное различие влияния препаратов на микробиоту наблюдалось в изменении альфа-разнообразия: оно восстановилось в ходе лечения только в группе, принимавшей нифуроксазид. Различия между группами как в изменении доли оппортунистов по отношению к комменсальной микрофлоре, так и в представленности отдельных условно патогенных семейств обусловлено начальными различиями между группами вследствие небольшого размера выборки. Так, в группе, принимавшей нифуроксазид, до начала лечения отличия от контрольной группы наблюдались только по представленности семейства *Fusobacteriaceae*. Сразу после окончания лечения и через месяц после эти отличия не наблюдались. В группе, принимавшей цефалоспорины, до начала лечения отличие от контрольной группы наблюдалось только по отношению доли оппортунистов к комменсальным таксонам. Это отношение снизилось до значений, характерных для здоровых детей. Также снизилась доля семейства *Enterobacteriaceae*, хотя его относительная представленность не превышала характерную для здоровых детей ни до, ни после окончания лечения.

Заключение

Таким образом, прием каждого из препаратов ассоциирован с уменьшением доли условно патогенной микрофлоры. Однако разнообразие микробиоты по окончании терапии восстановилось только при приеме нифуроксазида и оставалось сниженным в группе получавших цефалоспорины. Данные выводы должны быть уточнены на более широкой выборке, позволяющей разделить ее на более сбалансиро-

ванные по начальному составу микробиоты интервенционные группы, а также обеспечивающей большую статистическую мощность сравнения. Вместе с тем именно применение новейших методов исследования с использованием высокопроизводительного секвенирования гена 16S рРНК открывает новые перспективы по выявлению преимуществ и недостатков антибиотиков, что особенно важно для педиатрической практики.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.В.Горелов; сбор и обработка материала – Д.В.Усенко, В.С.Крикун; координация проекта – С.И.Кошечкин; статистическая обработка – В.Е.Одинцова; написание текста – Д.В.Усенко, В.Е.Одинцова, Д.А.Каштанова; редактирование – А.В.Тягт.

Authors' contribution

Study concept and design – A.V.Gorelov; data collection and processing – D.V.Usenko, V.S.Krikun; project management – S.I.Koshechkin; statistics – V.E.Odintsova; text writing – D.V.Usenko, V.E.Odintsova, D.A.Kashtanova; editing – A.V.Tyakht.

Информация о финансировании

Исследование проведено при финансовой поддержке компании АО «Босналек» (Босния и Герцеговина).

Financial support

The study was conducted under financial support from Bosnalijek d.d. (Bosnia and Herzegovina).

Конфликт интересов

Д.В.Усенко, А.В.Горелов сообщают о получении вознаграждения от АО «Босналек» (Босния и Герцеговина) за подготовку информационных материалов. Работы по анализу данных и подготовке публикации С.И.Кошечкиным, В.Е.Одинцовой, Д.А.Каштановой и А.В.Тягтом были оплачены АО «Босналек» в рамках коммерческого контракта с ООО «Кномикс». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Conflict of interests

D.V.Usenko and A.V.Gorelov declare funding from Bosnalijek d.d. (Bosnia and Herzegovina) for preparing informational materials. Works on data analysis and manuscript preparation by S.I.Koshechkin, V.E.Odintsova, D.A.Kashtanova and A.V.Tyakht were funded by Bosnalijek d.d. (Bosnia and Herzegovina) as part of a commercial contract with Knomics LLC. Other authors declare that there is no conflict of interests.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Ю.Г.Янушевичу и А.А.Шеленкову, сотрудникам группы Новых технологий молекулярного анализа ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, за проведение секвенирования материала.

Acknowledgments

Authors are grateful to Yanushevich Yu.G. and Shelonkov A.A., members of the Center for Molecular Diagnosis of Communicable Diseases of Clinical Department of Infectious Pathology of Central Research Institute of Epidemiology, for sequencing of the samples.

Информированное согласие

При проведении исследования было получено информированное согласие пациентов или их родителей либо законных представителей.

Informed consent

In carrying out the study, written informed consent was obtained from all patients or their parents or legal representatives.

Литература

1. Статистические материалы «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» 2013–2018. Режим доступа: https://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/?SHOWALL_1=1 [доступ 20.03.2020].
2. Диарея. Основные факты. 2017. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease> [доступ 20.01.2020].
3. Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *The Lancet*. 2015 Jan 31; 385(9966):430–40. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61698-6
4. Плоскирева АА, Горелов АВ. Системный подход к оценке микробиоценоза желудочно-кишечного тракта при острых кишечных инфекциях у детей. *Современные проблемы науки и образования*. 2015(5). Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22040>
5. Шумилов ПВ, Асмолова ГА, Продеус АП, Мазанкова ЛН. Роль микробиоценоза в становлении здоровья. Эффективная фармакотерапия. *Педиатрия*. 2015;(4-5):6–10. Режим доступа: <https://umedp.ru/upload/iblock/e26/izust.pdf>
6. Ткаченко ЕИ, Суворова АН. Дисбактериоз кишечника: руководство по диагностике и лечению. СПб.: Спецлит, 2007.
7. Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome – A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol*. 2018 Aug 14;9:1835. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01835
8. Печуров ДВ, Турти ТВ, Беляева ИА, Тяжева АА. Микробиота кишечника у детей: от профилактики нарушений становления к предупреждению неинфекционных заболеваний. *Педиатрическая фармакология*. 2016;13(4): 377–83. DOI: 10.15690/pf.v13i4.1611
9. McFarland LV. Use of probiotics to correct dysbiosis of normal microbiota following disease or disruptive events: a systematic review. *BMJ Open*. 2014 Aug 25;4(8):e005047. DOI: 10.1136/bmjopen-2014-005047
10. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. 2016 Feb;65(2):330–9. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309990
11. Efimova D, Tyakht A, Popenko A, Vasilyev A, Altukhov I, Dovidchenko N et al. Knomics-Biota – a system for exploratory analysis of human gut microbiota data. *BioData Min*. 2018 Nov 6;11:25. DOI: 10.1186/s13040-018-0187-3
12. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA et al. Author Correction: Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol*. 2019;37(9):1091. DOI: 10.1038/s41587-019-0252-6
13. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016 Jul;13(7):581–3. DOI: 10.1038/nmeth.3869
14. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. Available at: <https://www.R-project.org/>
15. Ohkusa T, Okayasu I, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Sato N. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2003 Jan 1;52(1):79–83. DOI: 10.1136/gut.52.1.79

16. Хавкин АИ, Волюнец ГВ, Никитин АВ. Взаимосвязь кишечного микробиома и метаболизма желчных кислот. Вопросы практической педиатрии. 2020; 15(1):53-60. DOI: 10.20953/1817-7646-2020-1-53-60
17. Хавкин АИ. Lactobacillus rhamnosus GG и кишечная микробиота. Вопросы детской диетологии. 2018;16(2):42-51. DOI: 10.20953/1727-5784-2018-2-42-51

References

1. Statistical materials "Information on infectious and parasitic diseases" 2013–2018. Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/?SHOWALL_1=1 [accessed 03.20.2020].
2. Diareya. Osnovnye fakty. 2017. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease> [accessed 20.01.2020] (In Russian).
3. Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *The Lancet*. 2015 Jan 31; 385(9966):430-40. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61698-6
4. Ploskireva AA, Gorelov AV. A systematic analysis to the assessment of gastrointestinal microbiocenosis at acute intestinal infections in children. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* (Modern problems of science and education). 2015(5). Available at: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22040> (In Russian).
5. Shumilov PV, Asmolova GA, Prodeus AP, Mazankova LN. Rol' mikrobiotsenoza v stanovlenii zdorov'ya. *Effektivnaya farmakoterapiya. Pediatriya*. 2015;(4-5):6-10. Available at: <https://umedp.ru/upload/iblock/e26/izust.pdf> (In Russian).
6. Tkachenko EI, Suvorova AN. Disbakterioz kishchnika: rukovodstvo po diagnostike i lecheniyu. Saint Petersburg: "Spetslit" Publ., 2007. (In Russian).
7. Kho ZY, Lal SK. The Human Gut Microbiome – A Potential Controller of Wellness and Disease. *Front Microbiol*. 2018 Aug 14;9:1835. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01835
8. Pechkurov DV, Turti TV, Belyaeva IA, Tjazheva AA. Intestinal Microflora in Children: from Formation Disturbances Prophylaxis to Preventing Non-Infectious Diseases. *Pediatricheskaya farmakologiya* (Pediatric Pharmacology). 2016; 13(4):377-83. DOI: 10.15690/pf.v13i4.1611 (In Russian).
9. McFarland LV. Use of probiotics to correct dysbiosis of normal microbiota following disease or disruptive events: a systematic review. *BMJ Open*. 2014 Aug 25;4(8):e005047. DOI: 10.1136/bmjopen-2014-005047
10. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. 2016 Feb;65(2):330-9. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309990
11. Efimova D, Tyakht A, Popenko A, Vasilyev A, Altukhov I, Dovidchenko N et al. Knomics-Biota – a system for exploratory analysis of human gut microbiota data. *BioData Min*. 2018 Nov 6;11:25. DOI: 10.1186/s13040-018-0187-3
12. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA et al. Author Correction: Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol*. 2019;37(9):1091. DOI: 10.1038/s41587-019-0252-6
13. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016 Jul;13(7):581-3. DOI: 10.1038/nmeth.3869
14. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. Available at: <https://www.R-project.org/>
15. Ohkusa T, Okayasu I, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Sato N. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2003 Jan 1;52(1):79-83. DOI: 10.1136/gut.52.1.79

16. Khavkin AI, Volynets GV, Nikitin AV. The relationship of the gut microbiome and metabolism of bile acids. *Vopr. prakt. pediatr.* (Clinical Practice in Pediatrics). 2020;15(1):53-60. DOI: 10.20953/1817-7646-2020-1-53-60 (In Russian).
17. Khavkin AI. Lactobacillus rhamnosus GG and intestinal microbiota. *Vopr. det. dietol.* (Pediatric Nutrition). 2018;16(2):42-51. DOI: 10.20953/1727-5784-2018-2-42-51 (In Russian).

Информация о соавторах:

Горелов Александр Васильевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
E-mail: agorelov_05@mail.ru
ORCID: 0000-0001-9257-0171

Одинцова Вера Евгеньевна, старший научный сотрудник ООО «Атлас», инженер-исследователь 1-й категории ООО «Кномикс»
Адрес: 121205, г. Москва, Инновационный центр «Сколково», ул. Большой бульвар, 42, стр. 1, пом. № 1293, 1294, 1295, 1296
E-mail: odintsova@atlas.ru
ORCID: 0000-0003-1897-4033

Каштанова Дарья Андреевна, кандидат медицинских наук, медицинский советник ООО «Атлас»
Адрес: 92 Albert Embankment, Vauxhall, London SE1 7TT, United Kingdom
E-mail: d.kashatanova@atlas.ru
ORCID: 0000-0001-8977-4384

Кошечкин Станислав Игоревич, кандидат биологических наук, исполнительный директор ООО «Кномикс»
Адрес: 121205, Москва, Инновационный центр «Сколково», ул. Большой бульвар, 42, стр. 1, пом. № 1293, 1294, 1295, 1296
E-mail: koshechkin@atlasbiomed.com
ORCID: 0000-0002-7389-0476

Тякт Александр Викторович, кандидат биологических наук, директор по технологиям ООО «Кномикс»
Адрес: 121205, Москва, Инновационный центр «Сколково», ул. Большой бульвар, 42, стр. 1, пом. № 1293, 1294, 1295, 1296
E-mail: alexander.tyakht@atlas.ru
ORCID: 0000-0002-7358-2537

Крикун Виктория Сергеевна, соискатель клинического отдела инфекционной патологии Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а
E-mail: vskrikun@icloud.com
ORCID: 0000-0001-7738-6384

Information about co-authors:

Aleksandr V. Gorelov, corresponding member of Russian Academy of Science, MD, PhD, DSc, professor, deputy director for science of Clinical Department of Infectious Pathology of Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing
Address: 3a Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russian Federation
E-mail: agorelov_05@mail.ru
ORCID: 0000-0001-9257-0171

Vera E. Odintsova, senior scientific researcher in Atlas LLC, researcher, Knomics LLC
Address: 42 Bolshoy Bulvar str., premise 1, rooms 1293, 1294, 1295, 1296, territory of the Skolkovo innovation center, Moscow, Russian Federation
E-mail: odintsova@atlas.ru
ORCID: 0000-0003-1897-4033

Daria A. Kashtanova, MD, PhD, medical adviser, Atlas LLC
Address: 92 Albert Embankment, Vauxhall, London SE1 7TT, United Kingdom
E-mail: d.kashtanova@atlas.ru
ORCID: 0000-0001-8977-4384

Stanislav I. Koshechkin, PhD in Biology, chief operating officer, Knomics LLC
Address: 42 Bolshoy Bulvar str., premise 1, rooms 1293, 1294, 1295, 1296, territory of the Skolkovo innovation center, Moscow, Russian Federation
E-mail: koshechkin@atlasbiomed.com
ORCID: 0000-0002-7389-0476

Alexander V. Tyakht, PhD in Biology, chief technical officer, Knomics LLC
Address: 42 Bolshoy Bulvar str., premise 1, rooms 1293, 1294, 1295, 1296, territory of the Skolkovo innovation center, Moscow, Russian Federation
E-mail: alexander.tyakht@atlas.ru
ORCID: 0000-0002-7358-2537

Viktoria S. Krikun, researcher of Clinical Department of Infectious Pathology of Central Research Institute of Epidemiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing
Address: 3a Novogireevskaya str., Moscow, 111123, Russian Federation
E-mail: vskrikun@icloud.com
ORCID: 0000-0001-7738-6384

ДИАРЕЯ? ЭНТЕРОФУРИЛ®

НЕТ ПРИЧИНЫ ДЛЯ РАССТРОЙСТВ!



СКАЧАТЬ
БЕСПЛАТНОЕ
ПРИЛОЖЕНИЕ
"ГДЕ ТУАЛЕТ"



✓
ДЛЯ ДЕТЕЙ
ОТ 1 МЕСЯЦА*



КАКОЙ БЫ НИ БЫЛА ДИАРЕЯ,
ОСНОВНАЯ ПРИЧИНА - ИНФЕКЦИЯ**

RUENT.2020.04 - РЕКЛАМА



- ДЕЙСТВУЕТ ПОСЛЕ ПЕРВОГО ПРИЕМА
- УСТРАНЯЕТ ИНФЕКЦИЮ
- СОХРАНЯЕТ ПОЛЕЗНУЮ МИКРОФЛОРУ

 **BOSNALIJEK**
Health First!

*Инструкция по медицинскому применению Энтерофурил суспензия от 05.06.2017 г.

**Kyoung Sup Hong and Joo Sung Kim. Rifaximin for the treatment of acute infectious diarrhea. *Ther Adv Gastroenterol*. 2011, 4(4), p. 227- 235

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ
НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ