

Федеральное государственное образовательное учреждение
высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

на правах рукописи

Соколова Татьяна Сергеевна

ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ И ЕГО
КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА НА ФОНЕ ИНВАЗИИ
OPISTHORCHIS FELINEUS У ДЕТЕЙ

3.1.21. Педиатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
доцент О.С. Федорова

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
1 КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА НА ФОНЕ ИНВАЗИИ <i>OPISTHORCHIS FELINEUS</i> У ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	13
1.1 Современные представления о микробиоте кишечника у детей	14
1.2 Особенности кишечной микробиоты при хронических неинфекционных заболеваниях	17
1.3 Роль гельминтной инвазии в развитии иммунозависимых заболеваний и патологии пищеварительной системы	24
1.4 Структура заболеваемости и распространенность инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> у детей.....	27
1.5 Влияние гельминтной инвазии на микробиоту кишечника.....	32
1.6 Изменения микробиоты пищеварительного тракта на фоне инвазии <i>Opisthorchis felineus</i>	36
2 КЛИНИЧЕСКИЕ ГРУППЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	40
2.1 Скрининговый этап исследования.....	42
2.1.1 Выбор региона	42
2.1.2 Характеристика выборки.....	43
2.1.3 Методы исследования скринингового этапа	45
2.2 Клинико–фармакологический этап исследования.....	45
2.2.1 Методы исследования и описание визитов клинико–фармакологического этапа.....	47
2.2.2 Дегельминтизация празиквантелом и наблюдение пациентов	49

2.3 Этап исследования микробиоты кишечника	49
2.4 Методы исследования.....	51
2.4.1 Клинико–анамнестические методы.....	51
2.4.2 Лабораторные методы исследования	52
2.4.3 Ультразвуковое исследование гепатобилиарной системы	52
2.4.4 Микроскопия образцов стула.....	53
2.4.5 Выделение бактериальной ДНК из образцов стула.....	54
2.4.7 Секвенирование бактериальных генов 16S рРНК	55
2.5 Статистические методы	56
2.5.1 Статистический анализ клинико–анамнестических данных	56
2.5.2 Биоинформатический анализ метагеномных данных	56
2.5.3 Статистический анализ данных состава кишечной микробиоты.....	57
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СКРИНИНГОВОГО ЭТАПА	60
3.1 Клиническая характеристика участников исследования	60
3.2 Анамнестические данные	62
3.3 Осведомленность детей об инвазии <i>Opisthorchis felineus</i>	63
3.4 Распространенность и интенсивность инвазии <i>Opisthorchis felineus</i>	64
3.4 Клиническая характеристика исследуемой выборки	66
4 РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО–ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ЭТАПА.....	71
4.1. Клиническая характеристика участников.....	71
4.2 Дегельминтизация и динамическое наблюдение пациентов	75
5 РЕЗУЛЬТАТЫ МЕТАГЕНОМНОГО АНАЛИЗА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ДЕТЕЙ	85
5.1 Оценка таксономического разнообразия микробиоты кишечника.....	85
5.2 Состав микробиоты кишечника на разных таксономических уровнях.....	89

5.3 Влияние инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> и дегельминтизации на микробиоту кишечника	97
5.4 Состояние микробиоты кишечника в зависимости от интенсивности инвазии	108
5.5 Особенности микробиоты кишечника в зависимости от клинических проявлений инвазии <i>Opisthorchis felineus</i>	110
6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	116
6.1 Эпидемиологические и клинические аспекты инвазии <i>Opisthorchis felineus</i> у детей в эндемичном регионе	117
6.2 Микробиота кишечника на фоне инвазии <i>O. felineus</i> и ее клиническое значение.....	126
ВЫВОДЫ	142
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	144
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	145
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	146

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Рост хронических неинфекционных болезней является ключевой проблемой здравоохранения, что определяет глобальные приоритеты в сфере охраны здоровья населения, в том числе в детском возрасте. Так, одной из стратегических областей политики Здоровье-2020 является снижение бремени неинфекционных и инфекционных болезней [13]. Одним из важнейших факторов, определяющих состояние здоровья человека, является микробиота кишечника. Глобальная исследовательская инициатива привела к старту интегративного проекта «Микробиом человека» (HMP, Human Microbiome Project) в целях изучения микрофлоры человека и её клинического значения [114; 204]. В настоящее время микробиота кишечника рассматривается как система, ответственная за поддержание метаболического и иммунологического гомеостаза организма. Изменение рациона питания, нерациональное использование антибактериальных препаратов, элиминация хронических паразитарных инвазий и другие факторы могут привести к формированию микробиоты, не обладающей устойчивостью и достаточным разнообразием, необходимыми для установления баланса между иммунологической толерантностью и воспалительными иммунными реакциями [70]. Показано, что дисбаланс кишечной микробиоты связан с развитием ряда хронических неинфекционных заболеваний [138; 169; 208].

В связи с тем, что одной из наиболее значимых природно-очаговых гельминтных инвазий на территории Российской Федерации является описторхоз, вызываемый трематодой *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*), становится актуальным исследование его влияния на микробиоту кишечника и, опосредовано, на здоровье населения в эндемичном регионе. Инвазия *O. felineus*, развиваясь в детском возрасте у населения эндемичных регионов, при длительном течении может приводить к развитию патологии желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы, наиболее серьезным осложнением которой является развитие рака печени и желчных протоков у взрослых [218]. Хроническая форма

описторхоза у детей ассоциирована с развитием функциональных и воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта [38]. В связи с этим становится актуальным изучение микробиоты кишечника как одного из факторов, способствующих развитию патологии пищеварительной системы на фоне инвазии *O. felineus* у детей.

Степень разработанности темы исследования. Результаты предыдущих исследований указывают о наличии дисбиоза кишечника у пациентов, страдающих хроническим описторхозом [22]. Однако, оценка микробиоты проводилась с использованием культуральных методов, выявляющих в среднем от 1 до 10 % бактерий, населяющих кишечник. Поэтому с появлением современных молекулярно-генетических методов становится возможным актуализировать и существенно расширить знания о кишечном микробиоме на фоне инвазии *O. felineus*. В настоящее время оценка состава микробиоты желчи в зависимости от наличия инвазии *O. felineus* проведена в двух исследованиях (у экспериментальных животных и пациентов с желчекаменной болезнью), в которых в качестве метода идентификации бактерий использовали секвенирование гена 16S рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (рРНК) [15; 72]. В исследовании с участием взрослых пациентов, страдающих желчекаменной болезнью, показано, что наличие инвазии *O. felineus* приводит к изменению микробиотического состава желчи, в том числе к увеличению представленности бактерий, ассоциированных с абсцессом печени и холангитом (*Haemophilus parainfluenzae*, *Streptococcus anginosus*) [72]. По данным предыдущих исследований показано, что изменение микробиоты на фоне инвазии *Opisthorchis viverrini* (*O. viverrini*) ассоциировано с хроническим воспалением, которое способствует развитию фиброза [117; 265]. Согласно научной гипотезе, влияние на состав и функцию кишечного микробиома является одним из механизмов, с помощью которого гельминты влияют на иммунитет хозяина [54; 86].

Цель исследования. Установить значение таксономического разнообразия микробиоты кишечника в развитии патологии пищеварительного тракта на фоне инвазии *Opisthorchis felineus* у детей и подростков.

Задачи исследования.

1. Актуализировать данные о распространенности и интенсивности инвазии *Opisthorchis felineus* у детей разных возрастных групп в эндемичном регионе (Томская область).
2. Охарактеризовать таксономический состав кишечной микробиоты у детей и подростков в зависимости от наличия и интенсивности инвазии *Opisthorchis felineus*.
3. Оценить влияние антигельминтной терапии на динамику клинических проявлений инвазии *Opisthorchis felineus* и состав микробиоты кишечника.
4. Изучить ассоциацию клинических форм инвазии *Opisthorchis felineus* с составом сообщества микроорганизмов кишечника у детей и подростков.

Научная новизна исследования. В результате исследования впервые за последние 10 лет актуализированы данные о распространенности и интенсивности инвазии *O. felineus* у детей с использованием фундаментальных эпидемиологических подходов и современных паразитологических методов (микроскопия образцов стула с использованием концентраторов «PARASEP»). В рамках исследования впервые выполнено комплексное обследование детей и подростков, проживающих в эндемичном регионе. Установлено, что инвазия *O. felineus* ассоциирована с изменениями желчного пузыря в виде утолщения и неровности стенки, наличия экзогенного содержимого (OR = 1,9; 95 % CI 1,2–3,1; $p = 0,012$) и признаками перидуктального фиброза первой степени (OR = 3,1; 95 % CI 1,0–9,7; $p = 0,04$) по данным ультразвукового исследования.

Впервые в результате исследования с использованием технологии секвенирования по фрагменту V4 гена бактериальной 16S рРНК получены данные о составе микробиоты кишечника у детей, страдающих инвазией *O. felineus*, а также после антигельминтной терапии. Новыми являются данные о том, что микробиота кишечника у детей, страдающих инвазией *O. felineus* до и после антигельминтной терапии, характеризуется столь же разнообразным таксономическим составом, что и микробиота детей без инвазии. Однако,

выявлена положительная связь между интенсивностью инвазии *O. felineus*, измеряемой как количество яиц гельминта в одном грамме стула, и α -разнообразием кишечной микробиоты. При оценке β -разнообразия микробиоты выявлены различия между составом метагенома пациентов, страдающих инвазией *O. felineus*, и неинвазированных детей ($R^2 = 0,05$; $p = 0,01$), а также между образцами, полученными после дегельминтизации празиквантелом, и детей, не имеющих инвазии ($R^2 = 0,07$; $p < 0,01$). Получены новые данные об ассоциации инвазии *O. felineus* у детей с изменениями количественной представленности ряда микроорганизмов на разных таксономических уровнях, при этом изменения зависят от интенсивности инвазии и клинической формы описторхоза.

Приоритетными стали данные о вкладе микробиоты кишечника на фоне описторхоза у детей в развитие патологии пищеварительного тракта. Микробиота при инвазии *O. felineus* характеризуется увеличением представленности потенциально патогенных микроорганизмов (Proteobacteria, Enterobacteriaceae, *Escherichia-Shigella*) и снижением представленности комменсальных бактерий Firmicutes. Антигельминтная терапия приводит к изменению представленности микроорганизмов Firmicutes и Proteobacteria, а также представленности бутират-продуцирующих (увеличение *Faecalibacterium*, снижение *Roseburia*) и условно-патогенных бактерий (снижение Synergistetes и *Escherichia-Shigella*, *Howardella*, *Slackia*, повышение *Leuconostoc*, *Varibaculum*).

Сформирована база данных, содержащая метагеномные данные о составе микробиоты кишечника у детей в зависимости от наличия инвазии *O. felineus* в эндемичном регионе (DOI 10.5281/zenodo.4304728).

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные эпидемиологические данные о распространенности и интенсивности инвазии *O. felineus* у детей будут иметь важное практическое значение для планирования медицинской помощи детскому населению в эндемичных регионах. Указанные данные могут быть использованы для международных аналитических исследований распространенности трематодозов в различных регионах мира.

Теоретическую значимость представляет сформулированная гипотеза о вкладе таксономического разнообразия микробиоты кишечника на фоне инвазии *O. felineus* в развитие патологии пищеварительного тракта. Полученные новые фундаментальные знания открывают перспективу разработки новых превентивных стратегий в отношении социально значимых заболеваний у детей и подростков.

Сформированная база данных (DOI:10.5281/zenodo.4304728), содержащая результаты метагеномного анализа, может быть использована при планировании последующих клинических исследований микробиоты человека.

Методология и методы исследования. Диссертационное исследование выполнено в период 2016–2019 гг. при поддержке гранта РФФИ №16-44-700148 «Фундаментальные подходы к оптимизации диагностики и терапии природно–очаговой инвазии *O. felineus* в эндемичных регионах». В соответствии с поставленными задачами в структуре исследования выполнены три этапа. Первый этап (скрининговый) спланирован в дизайне одномоментного исследования в рандомизированной выборке жителей Шегарского района Томской области. Данный этап выполнен в рамках «Эпидемиологического исследования распространенности инвазии *O. felineus* в Томской области». Общая численность репрезентативной выборки жителей подворий 9 сельских населенных пунктов составила 600 человек, в т.ч. были включены 85 детей в возрасте 7–18 лет (средний возраст 11 ± 3 года, соотношение девочек и мальчиков составило 1,3:1). Процедуры исследования включали: интервьюирование по клиническому вопроснику, физикальное обследование, двукратную микроскопию образцов стула с использованием концентраторов «Parasер» (Diasys Ltd, Великобритания), биохимический анализ крови (Diasys Ltd, GmbH), ультразвуковое исследование (УЗИ) гепатобилиарной системы с помощью с помощью прибора портативного ультразвукового диагностического М7 (Shenzhen Mindray Bio–Medical Electronics, Co, Ltd; регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07/629 от 10.08.2010).

Второй этап (клинико-фармакологический) проведен в дизайне проспективного исследования «случай-контроль», в рамках которого были

включены 100 детей: группа 1 – дети, не страдающие инвазией *O. felineus*, а также не имеющие острых и хронических болезней ($n = 50$, средний возраст $10,3 \pm 2,8$ лет, соотношение девочек и мальчиков 1,4:1), группа 2 – дети, страдающие инвазией *O. felineus* ($n = 50$, средний возраст $11 \pm 3,4$ лет, соотношение девочек и мальчиков 2,3:1). Антигельминтная терапия проведена зарегистрированным лекарственным средством – празиквантел в дозе 60 мг/кг массы тела в три приема с интервалом четыре часа. Исследование включало в себя шесть визитов для детей с подтвержденной инвазией *O. felineus* и получивших лечение празиквантелом. Через три месяца после антигельминтной терапии проводили сбор образцов стула для контрольного паразитологического исследования, а также для выделения бактериальной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

В рамках третьего этапа выполнено исследование микробиоты образцов стула с использованием метода 16S рРНК секвенирования в следующих группах: 1 – дети, не страдающие инвазией *O. felineus* ($n = 50$), 2 – дети, страдающие инвазией *O. felineus* до антигельминтного лечения ($n = 50$) и группа 3 – пациенты через три месяца после дегельминтизации празиквантелом ($n = 48$). Выделение бактериальной ДНК из образцов стула, а также биоинформатический и статистический анализ метагеномных данных, выполняли на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий д-р мед. наук, профессор Е.В. Удут). Секвенирование образцов проводили на базе лаборатории института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН и ООО «Кномикс» (г. Москва). Проведена биоинформатическая и статистическая обработка полученных метагеномных данных. Дополнительно анализ данных микробиоты выполнен с использованием платформы Knomics-Biota и доступны онлайн в виде интерактивных отчетов на сайте <https://biota.knomics.ru/opisthorchis-and-gut-microbiome-2019>. Данные клинического обследования и метагеномные данные доступны в репозитории Zenodo по ссылке <https://zenodo.org/deposit?page=1&size=20>.

Достоверность полученных данных подтверждена методами математической статистики.

Положения, выносимые на защиту:

1. Инвазия *O. felineus* влияет на структуру заболеваемости детей и подростков в эндемичном регионе и вносит вклад в развитие патологии гепатобилиарной системы, увеличивая частоту воспалительных заболеваний желчного пузыря в 1,9 раз (OR = 1,9; 95 % CI 1,2–3,1, p = 0,012) и перидуктального фиброза в 3 раза (OR = 3,1, 95 % CI 1,0–9,7, p = 0,04) по данным ультразвукового исследования. В детском и подростковом возрасте преобладает низкая интенсивность инвазии (93,3 %). Инвазия *O. felineus* у детей и подростков, проживающих в эндемичном регионе, сопровождается изменением состава микробиоты, характеризующимся ассоциацией α -разнообразия с ростом интенсивности инвазии и вкладом в β -разнообразие.

2. Микробиота кишечника детей и подростков, страдающих инвазией *O. felineus*, характеризуется увеличением представленности потенциально патогенных бактерий (Proteobacteria) и снижением представленности комменсальных (Firmicutes), при этом изменения микробиоты варьируют в зависимости от интенсивности инвазии и клинической формы описторхоза. В течение трех месяцев после антигельминтной терапии происходит восстановление представленности микроорганизмов Firmicutes и Proteobacteria, а также изменение представленности бутират-продуцирующих (увеличение *Faecalibacterium*, снижение *Roseburia*) и условно-патогенных бактерий (снижение *Synergistetes* и *Escherichia-Shigella*, *Howardella*, *Slackia*, повышение *Leuconostoc*, *Varibaculum*).

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом выборки участников исследования, использованием современными методами исследования и корректными методами обработки данных.

Основные результаты исследования представлены в виде докладов и публикаций тезисов на международной конференции «Asian Neglected Tropical Diseases» (Таиланд, г. Кхонкен, 2017 г., 2019 г.), международном конгрессе паразитологов «International Congress of Parasitology» (Южная Корея, г. Тэгу, 2018), XXI конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные

проблемы педиатрии» (г. Москва, 2019 г.), конкурсе молодых ученых XXI конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» – диплом I степени (г. Москва, 2019 г.), V конференция студентов и молодых ученых «Педиатрические чтения» (г. Москва, 2019 г.), конкурсе работ молодых ученых Общероссийского образовательного мероприятия «Эстафета вузовской науки – 2021» – диплом III степени (г. Москва, 2021 г.).

Внедрение результатов исследования. Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета и кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, а также в практическую деятельность детской клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и гастроэнтерологического отделения ОГАУЗ «Областная детская больница» (г. Томск).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 12 печатных работ, из них шесть публикаций в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в том числе пять полнотекстовых статей. Четыре статьи опубликованы в журналах, входящих в международные реферативные базы данных Scopus и Web of Science, в том числе три статьи – в журналах 1–2 квартиля.

Личный вклад автора. Автором проведен аналитический обзор источников литературы по изучаемой проблеме, сформулированы цель и задачи исследования, выполнен набор пациентов для участия в исследовании и их клиническое обследование, проведены анализ и интерпретация полученных данных, сформулированы основные научные положения и выводы работы, публикация результатов. При личном участии автора выполнена пробоподготовка образцов для секвенирования, статистический анализ результатов.

1 КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА НА ФОНЕ ИНВАЗИИ *OPISTHORCHIS FELINEUS* У ДЕТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Мировая статистика свидетельствует о росте распространенности хронических неинфекционных заболеваний в индустриально развитых странах [263; 272]. При этом в детской и подростковой популяции одно из ведущих мест в структуре неинфекционной патологии занимают болезни органов пищеварительной системы [46]. По данным эпидемиологических исследований в течение последних трех десятилетий заболеваемость ВЗК у детей увеличилась в 3–5 раз, при этом распространенность ВЗК в развитых странах достигает 0,5 % [73; 113; 162; 263]. Важная роль при оценке влияния как на текущее, так и на будущее состояние здоровья отводится микробиоте кишечника с учетом особенностей ее формирования, начиная с периода новорожденности [16; 23]. Кишечная микробиота играет важную роль в поддержании здоровья ребенка и патогенезе различных заболеваний [149; 254; 272]. С появлением современных молекулярно-генетических методов идентификации микроорганизмов стало возможным существенно расширить знания о микробиоте и ее модификации при различных патологических состояниях.

Эпидемиологические исследования показали, что в эндемичных по гельминтозам регионах, отмечается гораздо более низкая распространенность аллергии и аутоиммунных заболеваний [52; 186; 241]. Установлено, что некоторые гельминты оказывают супрессивное влияние на иммунную систему человека и влияют на реакцию хозяина против других патогенов или антигенов окружающей среды, что может приводить к снижению реакции на вакцины, повышению восприимчивости к бактериальной коинфекции [120; 194; 198; 278]. Предполагается, что воздействие на состав и функцию кишечного микробиома является одним из механизмов, посредством которого гельминты модифицируют иммунный ответ организма хозяина [54; 86; 149].

1.1 Современные представления о микробиоте кишечника у детей

Становление микробиоценоза кишечника происходит преимущественно на протяжении первого года жизни ребенка и продолжает формироваться до достижения совершеннолетия [192]. Первичная кишечная микрофлора и ее последующее развитие в детском возрасте запускает формирование иммунных и физиологических механизмов, которые определяют состояние здоровья в будущем. Хотя состав кишечной микрофлоры взрослого человека может меняться под влиянием многочисленных внешнесредовых и эндогенных факторов, в целом, микробиота остается относительно стабильной по основному видовому разнообразию [23; 40; 188]. Концепция устойчивости, то есть способности экосистемы восстанавливаться после повреждений, является ключевой в поддержании микробиоты кишечника, и в целом, здоровья человека [275].

Совокупность симбиотических микроорганизмов (бактерий, археев, вирусов, простейших и грибков), колонизирующих различные биотопы тела у здоровых людей, называется нормальной микробиотой. J. Lederberg предложил термин «микробиом» для обозначения всего генетического материала, содержащегося в микробиоте кишечника человека [185]. В процессе эволюции между человеком и населяющими его симбиотическими микроорганизмами установились прочные физиологические связи, поэтому в нормальных условиях для микрофлоры каждой области тела характерно относительное постоянство [267]. Применение современных молекулярно-генетических методов идентификации микроорганизмов позволило существенно расширить знания о кишечном микробиоме и его модификации при различных патологических состояниях. В настоящее время объединенные данные из проектов исследования микробиоты Metagenomics of human intestinal tract (MetaHIT) и Human Microbiome Project (HMP) предоставили наиболее полное описание микробиоценоза человека [48]. Согласно этим исследованиям у людей идентифицировано 2172 вида бактерий, классифицированных в 12 различных типов, из которых 93,5 % относится к типам Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria и Proteobacteria [48].

Наибольшей плотностью и совокупной биомассой обладает микробиота кишечника, видовое разнообразие которой в человеческих популяциях составляет более 500 видов бактерий [49; 154]. У взрослых кишечная микрофлора представлена двумя преобладающими типами бактерий: Bacteroidetes и Firmicutes, менее представлены типы Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia и Fusobacteria [49; 214]. Численность микробиоты постепенно увеличивается по ходу кишечника, составляя в тонкой кишке 10^2 – 10^7 КОЕ/г и достигая максимального значения в толстой кишке – до 10^{14} КОЕ/г [27]. В 2016 г. опубликованы результаты исследования, согласно которым микроорганизмов в человеческом теле примерно столько же, сколько и клеток ($3,9 \times 10^{13}$ и $3,0 \times 10^{13}$, соответственно) [250].

Общеизвестно, что бактерии начинают заселять желудочно-кишечный тракт ребенка сразу после рождения. Тем не менее, Aagaard K. et al. (2014) опубликовали данные, свидетельствующие о наличии микроорганизмов в плаценте [228]. В многочисленных исследованиях показано, что меконий не является стерильным и содержит специфическую микробиоту с преобладанием бактерий типа Firmicutes [118; 134]. После рождения в первые несколько дней в микробиоте кишечника преобладают *B. bifidum* и *Lactobacillus* и, вероятно, отражают микробиоту родовых путей матери [99]. Позже наблюдается относительное снижение представительства молочнокислой флоры, а среди бифидобактерий начинают преобладать виды *B. longum*, *B. breve*, *B. adolescentis* [24; 27]. Напротив, у младенцев, рожденных путем кесарева сечения, в микробиоте кишечника доминируют бактериальные сообщества, связанные с кожным покровом матери и больничной средой – *Staphylococcus*, *Corynebacterium* и *Propionibacterium* spp. [97]. Примерно к 2–5 годам состав, разнообразие и функциональные возможности микробиоты кишечника у детей сходны с микробиотой взрослых [23]. Таким образом, первые 3 года жизни представляют собой наиболее критический период формирования нормальной микробиоты. Основными факторами, влияющими на развитие микробиоты у детей, являются срок гестации, способ родоразрешения, генетические факторы, а также

внешнесредовые факторы, область географического проживания, особенности вскармливания в течение первого года жизни и диеты в более старшем возрасте [260].

Кишечная микрофлора состоит из двух взаимосвязанных популяций: полостной (10–15 %), которая в большей степени подвержена изменениям под влиянием внешних факторов, и пристеночной (мукозной, 85–90 %), относительно стабильной и наиболее точно отражающей состояние кишечника и всего организма в целом [20].

Микробиота тонкой кишки представлена в основном бактериями рода *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, а также актинобактериями, бактероидами, протеобактериями. В состав внутрипросветной микробиоты входят преимущественно факультативные анаэробы – стрептококки, энтерококки, *Escherichia coli* (*E. coli*), в то время как облигатные анаэробы ассоциированы в основном со слизистой оболочкой тонкой кишки (*Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Collinsella aerofaciens*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium* и другие виды)[27].

Во взрослой популяции в составе микробиоты толстой кишки преобладают бактерии типа Firmicutes, а у детей и пожилых людей доминируют представители типа Bacteroidetes. Соотношение Firmicutes/Bacteroidetes у взрослых составляет около 10:1, в то время как у детей оно, как правило, не превышает 1:1[132]. Вместе с тем устойчивые традиционные или семейные особенности питания в значительной степени определяют структуру кишечной микробиоты [158]. Изучение состава микробиоты кишечника у генетически сходных популяций африканцев показало, что представленность бактерий типа Prevotella увеличена у проживающих в сельских условиях в сравнении с городской выборкой [102]. В другом исследовании показано, что богатая полисахаридами диета у детей, проживающих в сельской местности западной Африки (Буркина–Фасо), связана с увеличением представленности бактерий типов Actinobacteria и Bacteroidetes и уменьшением содержания Firmicutes и Proteobacteria в сравнении с детьми из

городской выборки, в диете которых преобладают продукты с высоким содержанием белка животного происхождения, сахара и жиров. [158].

По типу метаболизма различают протеолитические бактерии (кишечная палочка, бактероиды, протей, клостридии), и сахаролитические (бифидобактерии, лактобактерии, энтерококки) [20]. Образующиеся при бактериальном гидролизе конечные продукты распада белков и аминокислот – индол, скатол, фенол активизируют кишечную перистальтику и стимулируют нормальное продвижение по кишечнику каловых масс. Сахаролитическая флора поглощает углеводы, преимущественно пищевые волокна, в результате чего образуются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) – уксусная, пропионовая, масляная, молочная. КЦЖК играют ключевую роль в поддержании гомеостаза кишечника, служат источником энергии для эпителиальных клеток толстой кишки, а также участвуют в регуляции пролиферации иммунных клеток и метаболизме липидов и глюкозы [89]. Масляная кислота (бутират) действует непосредственно как противовоспалительный агент, инактивируя путь внутриклеточного транскрипционного фактора NFκB, следовательно, ослабляя синтез воспалительных цитокинов [71; 172]

Функции нормальной микробиоты кишечника многочисленны и значимы не только на уровне желудочно-кишечного тракта, но и в масштабе всего организма человека. Согласно современным представлениям, в число значимых и наиболее охарактеризованных функций микробиоты кишечника входят защитная, пищеварительная, метаболическая и иммуномодулирующая [14; 20].

1.2 Особенности кишечной микробиоты при хронических неинфекционных заболеваниях

Неуклонный рост распространенности аллергических заболеваний, включая бронхиальную астму, аллергический ринит, атопический дерматит и пищевую аллергию, в развитых странах послужил вызовом для изучения факторов, модифицирующих популяционный иммунный ответ [195; 279]. Последние

данные свидетельствуют о возможной связи между высокой распространенностью аллергии и снижением воздействия микробов в результате изменения диетических привычек, характеризующихся снижением потребления пищевых волокон и повышенным потреблением жиров, улучшения гигиенических условий, нерационального использования антибактериальных препаратов и других факторов. Для объяснения причин распространения аллергии в 1989 г. предложена «гигиеническая гипотеза», согласно которой недостаточность инфекционной стимуляции в детском возрасте способствует развитию аллергической сенсибилизации [259]. Однако, популяризация «гигиенической гипотезы» и не всегда верное ее толкование сопряжено с негативным влиянием на восприятие общественностью рисков заражения патогенными организмами, возможностью инфекционных заболеваний [135]. В качестве уточнения данной гипотезы, устраняющего ее противоречие, была предложена «гипотеза старых друзей», согласно которой «западный стиль жизни» сопряжен с уменьшением воздействия на иммунную систему человека микроорганизмов и паразитов, которые сосуществовали с ним с момента его появления в процессе эволюции [246]. В соответствии с данной гипотезой, организмы, идентифицированные как «старые друзья» отличаются от патогенов, вызывающих большинство инфекционных заболеваний в современном мире, в первую очередь, необходимым «благоприятным» эффектом модификации иммунной системы.

В экспериментальном исследовании показано, что мыши, лишенные микробиоты кишечника (под воздействием антибактериальных препаратов), имеют повышенный риск развития аллергии [112]. Кишечная микробиота является одним из значимых факторов, оказывающих влияние на развитие пищевой сенсибилизации [88; 266]. Так, ряд экспериментальных исследований свидетельствует о влиянии интестинальной микрофлоры на развитие пищевой сенсибилизации и формирование оральной толерантности к пищевым аллергенам [88; 164]. Модулирующее влияние данного фактора связано, главным образом, с супрессией Th2-зависимого иммунного ответа [126]. Влияние кишечной

микрофлоры на формирование иммунного ответа связано со способностью некоторых штаммов лактобактерий индуцировать продукцию IL-10 и TGF- β CD4⁺ лимфоцитам [126].

Показаны различия в составе микробиоты кишечника в выборках младенцев в странах с высокой и низкой распространенностью аллергических болезней, а также у детей с установленной аллергией и здоровыми [53, 130]. У детей, страдающих атопическим дерматитом, в микрофлоре кишечника снижено содержание бактерий рода *Bifidobacterium* и повышена представленность *Staphylococcus* в сравнении со здоровыми детьми [130]. В проспективном исследовании с участием детей (Нидерланды, n = 957) выявлено, что колонизация кишечника бактериями *E. coli* и *Clostridium difficile* в возрасте одного месяца ассоциированы с развитием экземы и атопического дерматита в течение двух лет [209]. Таким образом, различия в составе кишечной микробиоты предшествуют развитию атопии.

Результаты экспериментальных и эпидемиологических исследований демонстрируют, что формирование кишечной микробиоты в раннем возрасте так же играет ключевую роль в развитии астмы [190; 226; 242]. Результаты крупного проспективного исследования с участием детей (n = 690) свидетельствуют, что незрелый состав микробиоты в возрасте одного года ассоциирован с риском развития бронхиальной астмы к пяти годам у детей, матери которых страдали астмой [196]. Так же показано, что высокий риск развития бронхиальной астмы связан с низкой представленностью таких родов, как *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Alistipes*, *Ruminococcus* и *Dialister*, и более высоким содержанием *Veillonella* [196]. Таким образом, адекватное созревание кишечной микробиоты в течение первых лет жизни ребенка может снизить риск развития астмы у предрасположенных детей.

Доказанное влияние микробиоты кишечника на иммунную адаптацию и становление толерантности организма к факторам внешней среды позволило использовать микроорганизмы-симбионты человека для профилактики и лечения целого ряда заболеваний [224; 230]. Результаты опубликованного метаанализа

показывают, что прием пробиотиков, содержащих штаммы бактерий *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, беременной женщиной и детьми в возрасте до 6 месяцев, эффективен в снижении риска развития аллергии в возрасте до 1–3 лет, особенно в семьях с высоким риском атопии [233]. Основными механизмами, посредством которых пробиотики предотвращают атопию, являются поляризация в сторону Th1 и, как следствие, снижение секреции цитокинов Th2, таких как IL-4, IL-5 и IL-13, а также снижение IgE и увеличение продукции IgA [183, 238]. Однако еще остаются нерешенными вопросы об оптимальных пробиотических штаммах, дозировке, продолжительности терапии.

В настоящее время во всем мире отмечается рост воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК), к которым относятся болезнь Крона и язвенный колит [162]. Несмотря на многолетнюю историю изучения, точная этиология и патогенез этих заболеваний до конца не раскрыты. Предполагается, что патогенез ВЗК заключается в сложном взаимодействии между генетикой, иммунной системой человека и факторами окружающей среды [208]. Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что наиболее часто воспалительные заболевания кишечника регистрируются в странах с самыми высокими показателями заболеваемости и распространенности в развитых странах Северной Америки и Европы [162; 182]. Так же показано, что распространенность ВЗК увеличивается в развивающихся странах по мере их индустриализации, а люди, которые мигрируют из регионов с низким уровнем распространенности ВЗК в западные развитые страны, подвержены повышенному риску развития болезни Крона или язвенного колита, особенно в детском возрасте [118; 182].

Показано, что влияние окружающей среды и диеты на микробиоту кишечника может быть существенным фактором развития заболевания [251]. В исследованиях сообщается, что состав микробиоты при хронических воспалительных заболеваниях кишечника изменяется по сравнению с таковым у здоровых людей. Так, наиболее характерными изменениями микробиоты при ВЗК являлись уменьшение общего разнообразия, снижение представленности Firmicutes и бактерий с противовоспалительными свойствами и, напротив,

увеличение количества микроорганизмов с провоспалительной активностью в сравнении с контрольными группами [208; 211; 251]. У детей с болезнью Крона ($n = 447$) в микробиоте кишечника повышено содержание Enterobacteriaceae, Pasteurellaceae, Veillonellaceae и Fusobacteriaceae и снижена представленность Erysipelotrichales, Bacteroidales и Clostridiales в сравнении с контрольной группой [268]. При этом анализ образцов тонкого кишечника, полученных путем биопсии, показал более значимые сдвиги в микробиотическом составе по сравнению с пробами стула. В нескольких независимых исследованиях показано, что у пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона в микробиоте кишечника снижена представленность вида *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*) [85, 98, 125, 240]. В экспериментальном исследовании продемонстрировано противовоспалительное действие *F. prausnitzii* за счет продукции бутирата, способности ингибировать продукцию IL-12, IFN- γ и повышать секрецию IL-10 [125]. У пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника снижена представленность и других бутират-продуцирующих бактерий, таких как *Blautia faecis*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus torques*, *Clostridium lavalense*, *Bacteroides uniformis* в сравнении со здоровыми людьми [240]. Бутират является конечным продуктом микробной ферментации пищевых волокон и источником энергии для эпителиальных клеток толстой кишки, обладает противовоспалительным, иммуномодулирующим, антиканцерогенным и другими защитными эффектами [62]. В другом исследовании показано, что увеличение представленности бактерий рода *Fusobacterium* (*F. varium*, *F. nucleatum*) ассоциировано с наличием воспалительных заболеваний кишечника [176]. Ряд исследований свидетельствует о повышении представленности *E. coli* в микробиоте кишечника у пациентов с целиакией, язвенным колитом и болезнью Крона [41; 157; 257].

У больных, страдающих целиакией, в период обострения в двенадцатиперстной кишке установлено повышение содержания бактерий родов *Bacteroides* и *Prevotella*, а также *E. coli*, и снижение представленности *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* по сравнению со здоровыми. Однако, соотношение

данных типов бактерий не различалось у больных целиакией в периоде ремиссии на фоне длительного соблюдения строгой безглютеновой диеты и у представителей группы контроля [157]. В ходе другого исследования анализ кишечной микробиоты у детей показал, что в группе больных целиакией доминирует *Bacteroides fragilis* в сравнении с образцами контрольной группы, и эти различия сохранялись даже после длительного соблюдения безглютеновой диеты [108]. Обзор публикаций, посвященных изучению микробиоты кишечника у пациентов с целиакией, показал различные варианты дисбиоза на фоне заболевания, но наиболее характерными изменениями были повышение представленности Proteobacteria, *Bacteroides* и снижение бактерий с пробиотическими свойствами и противовоспалительными свойствами (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *F. prausnitzii* и другие) в сравнении с контрольными группами [109; 170; 174; 257]. Остается спорным, являются ли изменения микробиоты причиной или последствием воспаления в кишечнике. Однако, в исследовании показано, что здоровые дети с риском развития целиакии (носители гена HLA-DQ2) имеют характерный состав микробиоты, в том числе ассоциированный с энтеротоксигенной кишечной палочкой [152; 161]. У детей раннего возраста с высоким генетическим риском развития целиакии в микробиоте кишечника снижена представленность *Bifidobacterium* spp. и повышено содержание Proteobacteria [152].

Данные экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют об ассоциации кишечной микробиоты с развитием колоректального рака. Анализ образцов опухолевой ткани у больных раком прямой кишки показал увеличение содержания бактерий рода *Fusobacterium*, в большей степени видов *F. nucleatum*, *F. necrophorum*, *F. mortiferum*, *F. perfoetens*, и уменьшение представленности Bacteroidetes и Firmicutes в сравнении с образцами не пораженной ткани толстой кишки [137; 139; 155; 243].

Благодаря анатомическому соединению через воротную вену, печень тесно связана с кишечником. Изменения кишечной микробиоты играют важную роль в индукции и ускорении прогрессирования повреждения печени, в том числе

канцерогенеза. Так, у пациентов с циррозом печени выявлено значительное увеличение Enterobacteriaceae и Enterococcus по сравнению со здоровой группой [93]. По данным другого исследования, у пациентов, страдающих вирусным гепатитом В и циррозом, в образцах стула снижены бифидобактерии и молочнокислые бактерии (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* и *Weissella*) и повышена представленность Enterobacteriaceae в сравнении с контролем [171]. У экспериментальных животных с индуцированной гепатоцеллюлярной карциномой в микробиоте кишечника показано уменьшение представленности *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Enterococcus* и более высокий уровень грамотрицательных бактерий, таких как *E. coli*, *Atopobium*, *Collinsella*, *Eggerthella* и *Coriobacterium* [237].

Влияние кишечной микробиоты на организм человека не ограничивается только местом ее непосредственного обитания. В настоящее время появляется все больше исследований о возможной взаимосвязи кишечной микробиоты с хроническими неинфекционными болезнями не только желудочно-кишечного тракта, но и бронхолегочной, нервной, сердечно-сосудистой и эндокринной систем [32; 45; 254].

В настоящее время накоплены убедительные данные об эффективности трансплантации фекальной микробиоты в терапии различных заболеваний. Первое сообщение в медицинской литературе об успешном лечении псевдомембранозного колита с помощью у четырех пациентов трансплантации фекальной микробиоты опубликовано в 1958 г. [129]. Фекальная трансплантация является высокоэффективной терапией инфекции *Clostridium difficile* с частотой ответа до 90 %, в то время как использование данного метода в лечении язвенного колита и болезни Крона было менее успешным [128]. Положительные результаты терапии введением донорских фекалий получены у пациентов с хроническим запором, синдромом раздраженного кишечника и метаболическим синдромом в сравнении с плацебо [128].

1.3 Роль гельминтной инвазии в развитии иммунозависимых заболеваний и патологии пищеварительной системы

В настоящее время в различных регионах мира не менее двух миллиардов человек, включая детей, страдают кишечными гельминтозами [141]. Гельминты приводят к иммунным регуляторным реакциям, которые обеспечивают их долгосрочное выживание в организме хозяина [262]. Известно, что некоторые гельминты оказывают супрессивное влияние на иммунную систему человека [90; 150] и могут влиять на реакцию хозяина против других патогенов или антигенов окружающей среды, определяя таким образом структуру заболеваемости в эндемичном регионе [86; 198; 278]. В исследованиях показано, что хроническая кишечная гельминтная инвазия снижает эффективность вакцинации, повышает восприимчивость к бактериальной кишечной коинфекции и изменяет течение и тяжесть аллергических и аутоиммунных болезней в экспериментальных моделях на животных и у человека [120; 194; 198; 278].

Так, в исследованиях показана отрицательная связь между паразитарной инвазией и чувствительностью кожного теста на аллергены [127; 220; 241]. По данным метаанализа 30 публикаций установлено, что инвазия *Ascaris lumbricoides* ассоциирована с увеличением риска развития бронхиальной астмы. Напротив, у пациентов, страдающих инвазией нематодами (преимущественно *Necator americanus*) исследователи отмечают более легкое течение бронхиальной астмы. Со стороны других видов кишечных паразитов (*Trichuris trichuria*, *Enterobius vermicularis* и *Strongyloides stercoralis*) не выявлено значимого влияния на течение или риск развития бронхиальной астмы [163, 186]. Результаты эпидемиологических исследований, проведенных в эндемичных регионах гельминтозов, в большей степени вызываемых трематодами, свидетельствуют о снижении риска аллергических заболеваний у жителей данных территорий [220; 227]. Показано, что механизмы иммунного ответа при трематодозах ассоциированы с супрессией Th2-звена иммунного ответа [193]. Так, способность *O. felinus* модифицировать иммунный ответ хозяина в сторону супрессии Th2-

зависимых механизмов иммунного ответа за счет повышения экспрессии генов IL-10 и TGF- β и снижения уровня провоспалительных маркеров IL-4, IL-5 установлена в ряде работ [10; 21]. В исследованиях с участием пациентов, страдающих аллергическими заболеваниями (атопический дерматит, бронхиальная астма), показано, что содержание CD4+FOXP3+ значимо выше у больных, страдающих хронической описторхозной инвазией в сравнении с неинвазированными. Антигельминтная терапия ассоциирована с прогрессированием клинических симптомов, повышением уровня CD4+FOXP3+ Treg и снижению CD4+CD25high Treg в периферической крови [10]. Кроме того, у жителей эндемичных регионов наличие антител к *O. felineus* отрицательно взаимосвязано с наличием атопической сенсibilизации [227].

Так, в исследовании выявлено, что у сельских жителей Зимбабве, инвазированных *Schistosoma haematobium*, уровни антиядерных антител и IL-10 были ниже, чем у неинвазированного населения, а после этиотропного лечения празиквантелом данные показатели значительно увеличились [248]. В эпидемиологических исследованиях продемонстрирована отрицательная связь между частотой рассеянного склероза в разных странах и распространенностью гельминтозов [133].

Существуют данные о роли гельминтов в канцерогенезе. Так, шистосомоз ассоциирован с развитием рака мочевого пузыря [191], а инвазия трематодами *O. viverrini* и *C. sinensis* является одним из значимых факторов риска развития холангиоцеллюлярного рака [271]. В экспериментальных моделях показано, что инвазия *O. felineus* ассоциирована с такими патологическими изменениями желчных протоков, как гиперплазия эпителия и перидуктальный фиброз, которые могут предшествовать холангиокарциноме [25; 165].

В исследованиях на животных моделях показано, что гельминты снижают активность воспаления в слизистой оболочке кишечника при болезни Крона и язвенном колите. Так, заражение мышей *Trichinella spiralis*, *Schistosoma mansoni*, *Heligmosomoides polygyrus* с последующей индукцией колита, оказало

протективный эффект в виде уменьшения смертности и тяжести воспаления у инвазированных мышей в сравнении с неинвазированными [124; 173].

В отечественной литературе опубликованы клинические данные, свидетельствующие о том, что инвазия *O. felineus* у больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника усугубляет функционально–морфологические нарушения в желудке и тонкой кишке [11]. В другом исследовании показано, что на фоне хронического описторхоза преобладают менее агрессивные формы болезни Крона [42].

Способность гельминтов оказывать супрессивное действие на развитие некоторых аллергических и воспалительных заболеваний кишечника в настоящее время рассматривается для поиска новых возможностей профилактики и терапии данных заболеваний. Так, получены положительные результаты лечения болезни Крона, язвенного колита и целиакии с использованием экспериментальной модели инвазии гельминтами *N. americanus* и *Trichuris suis* [123; 261]. Также опубликованы данные клинических испытаний эффективности инвазии *T. suis* при аллергических болезнях, рассеянном склерозе, а также применения инвазирования *N. americanus* в качестве потенциального метода лечения аллергического ринита и астмы [91]. У пяти пациентов с рассеянным склерозом после инвазирования *T. suis* (пероральное инфицирование яйцами гельминта) в течение трех месяцев зарегистрировано уменьшение повреждений головного мозга по результатам магнитно-резонансной томографии [234]. Напротив, в рандомизированном контролируемом исследовании с участием больных аллергическим ринитом, при инвазии *T. suis* отмечалось развитие клиники гельминтоза в виде расстройств желудочно-кишечного тракта, без значимой динамики в течении ринита [269].

В настоящее время преждевременны выводы относительно эффективности и безопасности экспериментального инфицирования гельминтами в целях терапии хронических неинфекционных заболеваний (воспалительные заболевания кишечника, аллергические болезни), в связи с малой численностью изучаемых групп и ограниченной продолжительностью наблюдения. Несмотря на

полученные положительные результаты «гельминтотерапии» воспалительных заболеваний кишечника и рассеянного склероза, данная терапевтическая стратегия имеет очевидные недостатки, включая абдоминальный, диспептический синдром, необходимость контроля интенсивности инвазии, и требует дальнейшего изучения.

Одним из механизмов изменения иммунного ответа на фоне паразитарной инвазии, возможно, является модификация микробиоты пищеварительного тракта с увеличением содержания бактерий, обладающих противовоспалительными свойствами [54; 149]. Проведенный обзор исследований показал, что гельминты могут влиять на разнообразие микробиотических сообществ кишечника. Предполагается, что воздействие на состав и функцию кишечного микробиома является одним из механизмов, посредством которых гельминты влияют на иммунитет хозяина и способствуют развитию хронических заболеваний [54; 86].

1.4 Структура заболеваемости и распространенность инвазии *Opisthorchis felineus* у детей

В ряде регионов Российской Федерации, особенно в Западной Сибири, сохраняется значительный уровень заболеваемости гельминтозом гепатобилиарной системы, вызываемым трематодой *O. felineus* [222; 223]. Описторхоз занимает доминирующее место в паразитарной патологии Западной Сибири, где в силу природных и социальных условий существует самый напряженный в мире очаг этой инвазии [9]. В структуре биогельминтозов в 2018 г. на долю описторхоза приходилось 79,5 % [28]. Согласно официальным данным, высокий уровень заболеваемости описторхозом (более 100 на 100 000 населения) регистрируется в шести субъектах Российской Федерации: Ханты–Мансийский автономный округ, Ямало–Ненецкий автономный округ, Тюменская, Томская и Новосибирская области. Превышение среднероссийского показателя заболеваемости описторхозом зарегистрировано в 13 субъектах Российской Федерации. За последние 20 лет в Российской Федерации согласно данным официальной статистики не выявлено отчетливой динамики по среднему

показателю заболеваемости описторхозом, отмечается вовлечение новых регионов страны в эпидемический процесс (26,5 в 1991–1993 гг. против 24,7 в 2011–2013 гг. на 100 000 населения) [1]. Рост уровня заболеваемости описторхозом отмечается в Новосибирской области и составляет 148,8 на 100 тысяч населения в 2016 году, что выше среднееголетнего уровня заболеваемости на 17 %. Однако, среди детского населения показатель заболеваемости стал ниже на 2 % в сравнении со среднееголетним уровнем заболеваемости (55,5 в 2016 г. против 56,7 за 2011–2015 гг. на 100 000 населения).

Заболеваемость детей до 17 лет за период с 2012 по 2017 г. составила 13 223 случаев (таблица 1). В Томской области за данный период зарегистрировано 3 322 случая описторхоза среди детского населения.

Таблица 1 – Заболеваемость описторхозом в гиперэндемичных регионах

Субъект РФ	2017 г.			2016 г.			2015 г.		
	Число случаев всего, абс.	Дети до 17 лет		Число случаев всего, абс.	Дети до 17 лет		Число случаев всего, абс.	Дети до 17 лет	
		абс.	%		абс.	%		абс.	%
Томская область	1251	431	34,5	1336	491	36,8	1557	526	33,8
Ханты–Мансийский автономный округ	4309	355	8,24	4454	363	8,1	6024	374	6,2
Ямало–Ненецкий автономный округ	666	4	6,6	766	48	6,2	875	64	7,3
Тюменская область	1341	–	–	1384	–	–	1518	–	–
Новосибирская область	3118	–	–	4109	–	–	3930	–	–

Причиной уменьшения регистрируемой заболеваемости являются дефекты выявления, учета и регистрации случаев описторхоза, связанные со снижением внимания к этой проблеме, низкой обращаемостью пациентов. Проблема описторхоза осложняется неконтролируемым увеличением числа

рыбоперерабатывающих предприятий, нарушающих технологический режим обеззараживания рыбы от промежуточных форм развития гельминта и реализующих населению эпидемически опасную продукцию [28].

Данные о распространенности *O. felineus*, представленные в литературе, демонстрируют значительную вариабельность этого признака, что связано с использованием различных подходов, используемых для изучения показателя. Большинство публикаций представляют данные заболеваемости хроническим описторхозом, основанной на обращаемости пациентов в лечебные учреждения, что не отражает истинной распространенности инвазии, а последние эпидемиологические исследования в некоторых регионах выполнены более 20 лет назад (таблица 2). В основном исследования были выполнены в Западной Сибири. Таблица 2 – Обзор оригинальных исследований распространенности описторхоза у детей в России (1980– 2018 гг.)

Первый автор, год	Область/ регион	Размер выборки	Возраст, лет	Инвазия <i>O.felineus</i> %	Метод диагностики
Безр А.С., 1980	Курганская область	73	1–5	0	Микроскопия образцов стула
		105	6–14	1,9	
Мерзлова Н.Б., 1982	Пермский край	39	1–3	15,4	Микроскопия образцов стула, желчи
		82	4–7	19,5	
		197	8–12	27,9	
		202	13–15	30,2	
Бородина О.Н., 1983	Тюменская область	–	7–9	17,9	Микроскопия образцов стула
Бронштейн А.М., 1985	Ханты–Мансийский автономный округ, город	70	1–4	8,6	Микроскопия образцов стула
		33	5–9	24,2	
		20	10–14	50	
		89	15–19	52,8	
Бронштейн А.М., 1986	Ханты–Мансийский автономный округ, село	21	1–4	19	Микроскопия образцов стула
		27	5–9	66,7	
		21	10–14	100	
		14	15–19	100	

Продолжение таблицы 2

Первый автор, год	Область/ регион	Размер выборки	Возраст, лет	Инвазия <i>O.felineus</i> %	Метод диагностики
Бронштейн А.М., 1986	Ханты–Мансийский автономный округ, село	21	1–4	19	Микроскопия образцов стула
		27	5–9	66,7	
		21	10–14	100	
		14	15–19	100	
Бронштейн А.М., 1986	Ханты–Мансийский автономный округ, село	38	1–4	34,2	Микроскопия образцов стула
		33	5–9	69,7	
		43	10–14	97,7	
		38	15–19	97,4	
Бронштейн А.М., 1987	Ханты–Мансийский автономный округ, село	95	1–4	9,5	Микроскопия образцов стула
		73	5–9	32,9	
		40	10–14	47,5	
		27	15–19	51,9	
Учуаткин Е.А., 1988	Пермский край (коренное население)	44	1–4	4,5	Микроскопия образцов стула
		85	5–9	20	
		52	10–14	36,5	
		26	15–19	34,6	
	Пермский край	65	1–4	1,5	
		55	5–9	10,9	
		67	10–14	19,4	
		38	15–19	26,3	
Михайлов М.М., 1998	Томская область	3150	0–14	62	Микроскопия образцов стула
Огородова Л.М., 2006	Томская область	–	6–15	31,5	Микроскопия образцов стула, иммуноферментный анализ (ИФА)
	г. Томск	–	6–15	17,4	
Огородова Л.М., 2011	Томская область	896	7–15	27,7	Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Согласно данным эпидемиологических исследований, распространенность инвазии *O. felineus* у детей ниже, чем у взрослых, и постепенно увеличивается с возрастом. Однако в высокоэндемичных регионах отмечается высокий уровень распространенности даже среди детского населения. В эндемичных регионах выявлены различия в распространенности инвазии *O. felineus* у коренного населения и мигрантов [18]. Согласно этим исследованиям, распространенность инвазии *O. felineus* статистически значимо выше у коренного населения, чем у мигрантов во всех районах, так как использование свежей или замороженной сырой рыбы является обычной диетической привычкой коренного населения Сибири и менее распространено среди мигрантов.

Исследования по изучению распространенности описторхоза у детей на территории Томской области, выполненные в период 1979 по 1982 гг., свидетельствуют, что наиболее высокий показатель заболеваемости описторхозом регистрируется в Александровском, Кургаском, Колпашевском районах, в которых данный показатель составил $63,97 \pm 0,82$ на 1000 детского населения. В районах, отдаленных от поймы Оби, распространенность описторхоза у детей составил в среднем $12,52 \pm 0,41$ [3].

В результате эпидемиологического исследования с применением комплексного подхода оценки инвазии *O. felineus* (копроовоскопия, ПЦР) было выявлено, что на территории Томской области около 30 % детей в возрасте от 7 до 15 лет имеют инвазию *O. felineus*, с колебаниями показателя от 10,5 до 57,1 % в зависимости от региона проживания и близостью расположения крупных притоков Оби [39].

Таким образом, проведенный анализ доступной научной литературы свидетельствует об отсутствии современных актуальных данных о распространенности инвазии *O. felineus* у детей на территории эндемичных регионов РФ. Требуется проведение эпидемиологического исследования в целях актуализации данных о распространенности описторхоза и его влиянии на состояние здоровья детского населения.

1.5 Влияние гельминтной инвазии на микробиоту кишечника

В настоящее время появляется все больше доказательств того, что вызванные гельминтами изменения в микробном разнообразии кишечника влияют на иммунный ответ хозяина [92]. Микробиота кишечника и гельминтные инфекции имеют сходное регуляторное действие, подавляя Th2-зависимые иммунные механизмы. В связи с этим становится актуальным изучение влияния гельминтов и микробиоты кишечника для поиска более безопасных и контролируемых методов для профилактики и лечения хронических неинфекционных заболеваний с использованием пре- или пробиотиков.

Ряд исследований, опубликованных за последние несколько лет, показывают, что гельминтная инвазия может изменять качественный и количественный состав кишечного микробиома. У мышей, инвазированных гельминтом *H. polygyrus*, в микробиоте кишечника зарегистрировано более высокое количество бактерий семейств Lactobacillaceae и Enterobacteriaceae и уменьшение представленности бактерий родов *Eubacterium* и *Clostridium* в сравнении с неинвазированными [86], при этом обилие *L. taiwanensis* повышало восприимчивость мышей к этому гельминту. Инвазия нематодой *Trichuris muris* у мышей приводила к увеличению числа Lactobacillaceae в кишечнике [84].

Существенное влияние на микробиотические сообщества кишечника могут оказывать и печеночные трематоды, для которых кишечный тракт не является типичной средой. Наличие инвазии *O. viverrini* или *C. sinensis* так же связано с более высоким содержанием пробиотических видов *Lactobacillus* у экспериментальных животных [178]. Инвазия *O. viverrini* приводит к увеличению α -разнообразия в микробных сообществах толстой кишки, в частности, за счет увеличения численности Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Lactobacillaceae, при одновременном уменьшении Porphyromonadaceae, Erysipelotrichaceae и Eubacteriaceae [178]. При инвазии *Trichuris suis* у лабораторных свиней были выявлены значительные изменения кишечной микробиоты и ассоциация с обострением кампилобактериоза [55]. В таблице 3 представлены данные о

модификации микробиоты кишечника на фоне различных паразитарных инвазиях у экспериментальных животных.

Таблица 3 – Обзор публикаций по изучению микробиоты на фоне паразитарных инвазий (экспериментальные данные)

Гельминтная инвазия	Модель	Результаты	Автор, год публикации
<i>T. muris</i>	мышь, n = 30	↑Firmicutes, Proteobacteria, Lactobacillaceae, Alistipes и Odoribacter, Parasutterella, Mucispirillum ↓ Bacteroidetes. Allobaculum и Barnesiella, Sporobacter	Holm J.B., 2015
<i>T. muris</i>	мышь, n = 25	↑Mucispirillum and Rikenellaceae ↓Parabacteroides, Prevotella, Bacteroidetes	Houlden A., 2015
<i>H. polygyrus</i>	мышь, n = 20	↑Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Lactobacillaceae и Clostridiaceae ↓ Erysipelotrichaceae	Walk T., 2010
<i>H. polygyrus</i>	мышь	↑ Bacteroides, Clostridium, Lactobacillus, Enterobacteriaceae	Rausch S., 2013
<i>H. polygyrus</i>	мышь	↑Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae ↓Eubacterium, Clostridium	Reynolds L.A., 2014
<i>H. polygyrus</i>	мышь	↑ Clostridiales	Zaiss M., 2015
<i>T. suis</i>	свинья, n = 7	↑ Mucispirillum, Paraprevotella ↓Ruminococcus, Oscillibacter, Succinivibrio	Li R.W., 2012
<i>O. viverrini</i>	хомяк, n = 8	↑Lachnospiraceae, Ruminococcaceae Lactobacillaceae. ↑ Clostridiales и Bacteroidales, Ruminococcaceae и Desulfovibrionaceae, ↓Porphyromonadaceae, Erysipelotrichaceae и Eubacteriaceae, <i>Lactobacillus</i>	Plieskatt J.L., 2013

Продолжение таблицы 3

Гельминтная инвазия	Модель	Результаты	Автор, год публикации
<i>O. viverrini</i>	хомяки, n = 26	↑ <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Streptococcus luteciae</i> , <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>H. pylori</i> , <i>E. coli</i> . ↓ <i>Acidaminococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Megasphaera</i>	Itthitaetrakool U. 2016

При исследовании микробиоты образцов стула с использованием ампликонного секвенирования бактериального гена 16S рРНК у детей с инвазией *T. trichiura*, не выявлено значимых различий в составе сообществ бактерий при сравнении с группой детей без инвазии. Однако, при сочетании инвазии *T. trichiura* и *A. lumbricoides* зарегистрировано снижение представленности видов бактерий, относящихся к классу Clostridia и уменьшение бактериального разнообразия [225]. Позже, в другом исследовании выявлено более высокое видовое разнообразие микробиоты кишечника у сельских жителей Малайзии, пораженных *T. Trichiura*, *A. lumbricoides* и другими нематодами, в сравнении с неинвазированным населением (таблица 4) [151].

Таблица 4 – Обзор публикаций по изучению микробиоты на фоне паразитарных инвазий (клинические данные)

Гельминтная инвазия	Выборка / n	Результаты исследования микробиоты	Автор, год публикации
<i>A. lumbricoides</i> <i>T. trichiura</i>	Дети, 97	не выявлено значимого воздействия при инвазии <i>T. trichiura</i> ↓ таксономического разнообразия и ↑ <i>Streptococcus</i> spp. при инвазии <i>A. lumbricoides</i> и <i>T. trichiura</i> , ↓ <i>Clostridia</i>	Cooper P., 2013
<i>Trichuris</i> spp. <i>Ascaris</i> spp.	Взрослые и дети, 51	↑ Paraprevotellaceae, Mollicutes, Bacteroidales, Alphaproteobacteria ↓ <i>Bifidobacterium</i>	Lee S.C., 2014

Продолжение таблицы 4

Гельминтная инвазия	Выборка / n	Результаты исследования микробиоты	Автор, год публикации
<i>N. americanus</i>	Взрослые, с целиакией, 8	↑Bacteroidetes, <i>Lachnospira</i> ↓Firmicutes, Tenericutes, <i>Erysipelotrichi, Clostridia,</i> <i>Ruminococcus</i>	Giacomin P., 2015
<i>S. haematobium</i>	Дети, 139	не выявлено значимого воздействия	Kay G.L., 2015
<i>N. americanus</i>	Взрослые с целиакией	↑Bacteroidia, Flavobacteria, Flavobacteriales	Giacomin P., 2016
<i>O. viverrini</i>	Взрослые с холангиокарциномой 60	↑Bifidobacteriaceae, Enterobacteriaceae и Enterococcaceae	Chng K.R., 2016

Изменения в разнообразии микробиотических сообществ варьируют в зависимости от вида гельминтов, но в целом наличие гельминтных инвазий связано с увеличением микробного разнообразия и, как следствие, с повышением концентрации короткоцепочечных жирных кислот в толстом кишечнике [168; 175; 274]. Результаты исследований показывают, что гельминтная инвазия модифицирует кишечные бактериальные сообщества, а микробиота, в свою очередь, способствует иммуномодулирующим эффектам паразитов. В эксперименте показано, что трансплантация модифицированной гельминтом микробиоты при отсутствии экспериментальной инвазии снижает уровень провоспалительных цитокинов у мышей–реципиентов в модели бронхиальной астмы [175], что может рассматриваться как более безопасный подход в профилактике обострений данной патологии.

Очевидно, что некоторые виды паразитов представляют серьезную угрозу для здоровья населения и вызывают значительную заболеваемость во всем мире [212]. С другой стороны, в связи с осуществлением программ массового антигельминтного лечения во многих эндемичных регионах важно полностью понять последствия дегельминтизации для здоровья населения. В дополнение к изменениям в микробиоме кишечника, связанным непосредственно с

гельминтной инвазией, дегельминтизация может также оказать существенное влияние на численность и разнообразие кишечных бактерий. С другой стороны, микробиотические сообщества кишечника могут влиять на эффективность антигельминтной терапии [110]. Так, при исследовании фекальной микробиоты у детей, инвазированных *Schistosoma mansoni* и получивших лечение празиквантелом в дозе 60 мг/кг, выявлено более высокое количество бактерий класса *Fusobacteriales*, родов *Clostridium* и *Actinobacillus* через 24 часа после приема препарата, чем у детей, получивших плацебо [177; 217]. Дегельминтизация мебендазолом *Enterobius vermicularis* связана с увеличением бактериального разнообразия, увеличением обилия Actinobacteria, включая пробиотик *Bifidobacterium*, и снижением представленности Fusobacteria [159].

1.6 Изменения микробиоты пищеварительного тракта на фоне инвазии

Opisthorchis felinus

В эндемичных по описторхозу регионах инвазия *O. felinus* чаще протекает бессимптомно, но длительное хроническое течение инвазии создает предпосылки для развития патологических состояний печени и желчевыводящей системы [36; 218]. Развитие холестаза на фоне описторхоза способствует присоединению вторичной инфекции, которая вызывает гнойный холангит, абсцессы печени и другие осложнения. В патологический процесс при инвазии *O. felinus* вовлечены не только органы непосредственного контакта, но и интактные органы. Так, инвазия способствует развитию синдрома мальабсорбции, эзофагита, гастрита, функциональным и воспалительным изменениям в кишечнике [22]. Исследование микробного биоценоза кишечника с применением бактериологического анализа у пациентов с хроническим и резидуальным описторхозом показало наличие дисбиоза, который проявлялся снижением количества кишечной палочки, снижением или отсутствием роста *B. bifidum*, увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов (*S. aureus*, *Proteus*, *Klebsiella* и др.), увеличением числа кокковой флоры [22]. Предыдущие исследования также указывали на

высокую частоту (31,8–100 %) дисбактериоза кишечника у пациентов, страдающих хроническим описторхозом [22]. Однако, оценка разнообразия микробиоты проводилась с использованием культуральных методов, выявляющих в среднем от 1 до 10 % бактерий, населяющих кишечник. Поэтому с появлением современных молекулярно-генетических методов становится возможным актуализировать и существенно расширить знания о кишечном микробиоме на фоне инвазии *O. felineus*.

Вопреки распространенному мнению, желчь в печени не стерильна и содержит различные виды микробов [76]. Появляется все больше данных о микробном составе желчи при различных заболеваниях печени [142; 145; 202; 207]. У пациентов с желчекаменной болезнью в микробиоме желчи доминируют Firmicutes, Proteobacteria и Bacteroidetes [142]. В составе бактериальных сообществ у этих же пациентов увеличено содержание бактерий типа Proteobacteria и снижена представленность бактериальных родов *Faecalibacterium*, *Lachnospira* и *Roseburia* в сравнении со здоровыми участниками. Метагеномный анализ образцов, полученных с помощью эндоскопической холангиопанкреатографии, продемонстрировал ассоциацию *H. pylori* со степенью перидуктального фиброза и холангиокарциномой [207]. Опубликованы результаты изучения микробиоты желчных протоков у больных холангиокарциномой на фоне инвазии *O. viverrini*, которая является доказанным фактором риска развития рака желчных протоков [271]. При этом, у пациентов с холангиокарциномой на фоне инвазии *O. viverrini* установлено повышение представленности бактерий семейств Bifidobacteriaceae, Enterobacteriaceae и Enterococcaceae в сравнении с неинфицированными больными [265]. Дополнительные исследования у экспериментальных животных и пациентов с холангиокарциномой, подтверждают гипотезу о том, что *Helicobacter* (*H. pylori*, *H. hepaticus* и *H. bilis*) сопутствует инвазии *O. viverrini* и способствует патогенезу холангиокарциномы, ассоциированной с описторхозом [75; 116; 148].

Оценка состава микробиоты желчи в зависимости от наличия инвазии *O. felineus* проведена в двух исследованиях (у экспериментальных животных и

пациентов с желчекаменной болезнью), в которых в качестве метода идентификации бактерий использовали секвенирование гена 16S рРНК [15; 72]. Так, инвазия *O. felineus* у животных приводит к увеличению α -разнообразия микробиоты желчных протоков в сравнении с интактными животными [15]. Так же проведен метагеномный анализ образцов зрелых форм *O. felineus*, согласно которому наиболее представленными родами микроорганизмов были *Sphingomonas*, *Prevotella*, *Methylobacterium*. В исследовании с участием пациентов, страдающих желчекаменной болезнью, показано, что наличие инвазии *O. felineus* приводит к изменению микробиотического состава желчи, а именно к более высокому содержанию микроорганизмов родов *Klebsiella*, *Aggregatibacter*, *Lactobacillus*, *Treponema*, видов *Haemophilus parainfluenzae* и *Staphylococcus equorum*. Ряд микроорганизмов (*Veillonella dispar*, *Paracoccus aminovorans*, *Parabacteroides distasonis*, *Sphingomonas changbaiensis*, *Cellulosimicrobium spp.*, *Phycococcus spp.*), обнаруженных при инвазии, не идентифицирован у неинвазированных индивидов [72]. В группе пациентов с желчекаменной болезнью без инвазии в образцах желчи отмечали увеличение содержания *Flectobacillus*, *Xanthobacter*, *Burkholderia*, *Streptomyces*, *Jeotgalicoccus psychrophilus* и *Treponema socranskii*. при сравнении с пациентами, страдающими описторхозом. Таким образом, в данном исследовании выявлены различия у инвазированных и неинвазированных пациентов на разных таксономических уровнях в составе микробиома желчи, в том числе связанные с повышением представленности бактерий, ассоциированных с абсцессом печени и холангитом (*Haemophilus parainfluenzae*, *Streptococcus anginosus*) у пациентов с инвазией [146]. Однако, следует учитывать, что участники этого исследования пациенты в возрасте 40–61 года с желчекаменной болезнью и метаболические изменения, связанные с образованием желчных камней, также могли привести к изменению микрофлоры. Представляет интерес изучение влияния инвазии *O. felineus* на микробиоту у пациентов без сопутствующих заболеваний и факторов, способных повлиять на состав микробиотических сообществ.

Таким образом, исследование микробиоты кишечника у детей на фоне инвазии *O. felineus* является актуальной задачей, решение которой позволит получить новые данные о возможных механизмах формирования патологии пищеварительного тракта и системных проявлений при описторхозе. Изменение микробиоты на фоне описторхоза, вероятно, влияет на формирование иммунного ответа в детском возрасте, что открывает перспективу разработки новых подходов к профилактике хронических неинфекционных заболеваний у детей.

2 КЛИНИЧЕСКИЕ ГРУППЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

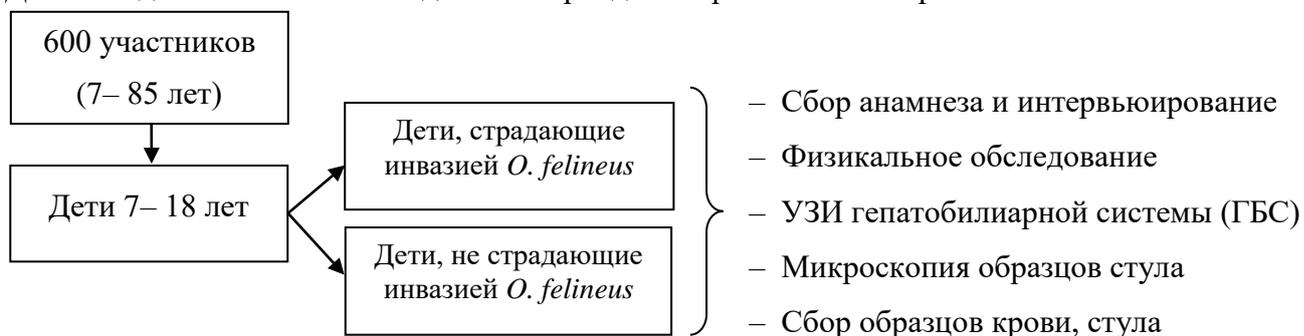
Настоящее диссертационное исследование выполнено на базе ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в период 2016–2019 гг. при поддержке гранта РФФИ № 16–44–700148 «Фундаментальные подходы к оптимизации диагностики и терапии природно–очаговой инвазии *O. felineus* эндемичных регионах». В качестве клинических баз использованы: детская клиника ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий отделением канд. мед. наук Д.В. Козырицкая), ОГБУЗ «Областная детская больница» (главный врач канд. мед. наук Е.Л. Тимошина), ОГБУЗ «Шегарская районная больница» (главный врач С.В. Мазейна). Выделение бактериальной ДНК из образцов стула, а также биоинформатический и статистический анализ метагеномных данных, выполняли на базе Центральной научно–исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий д–р мед наук, профессор Е.В. Удут). Секвенирование образцов проводили на базе лаборатории института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН и ООО «Кномикс» (г. Москва). Протокол исследования разработан в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики [12] и одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заключение от 31 октября 2016 г., регистрационный номер 4981).

В структуре исследования выполнено три основных этапа. Первый, скрининговый, этап выполнен в рамках одномоментного эпидемиологического исследования распространенности инвазии *O. felineus* в рандомизированной выборке в эндемичном регионе Томской области. Второй этап, клинико–фармакологический, выполнен в дизайне проспективного исследования «случай–контроль». На заключительном этапе выполнено исследование микробиоты образцов стула пациентов, страдающих инвазией *O. felineus* до и после дегельминтизации, и контрольной группы с использованием метода 16S рРНК секвенирования, проведена биоинформатическая и статистическая обработка

полученных метагеномных данных. Дизайн исследования и описание визитов обобщены на рисунке 1.

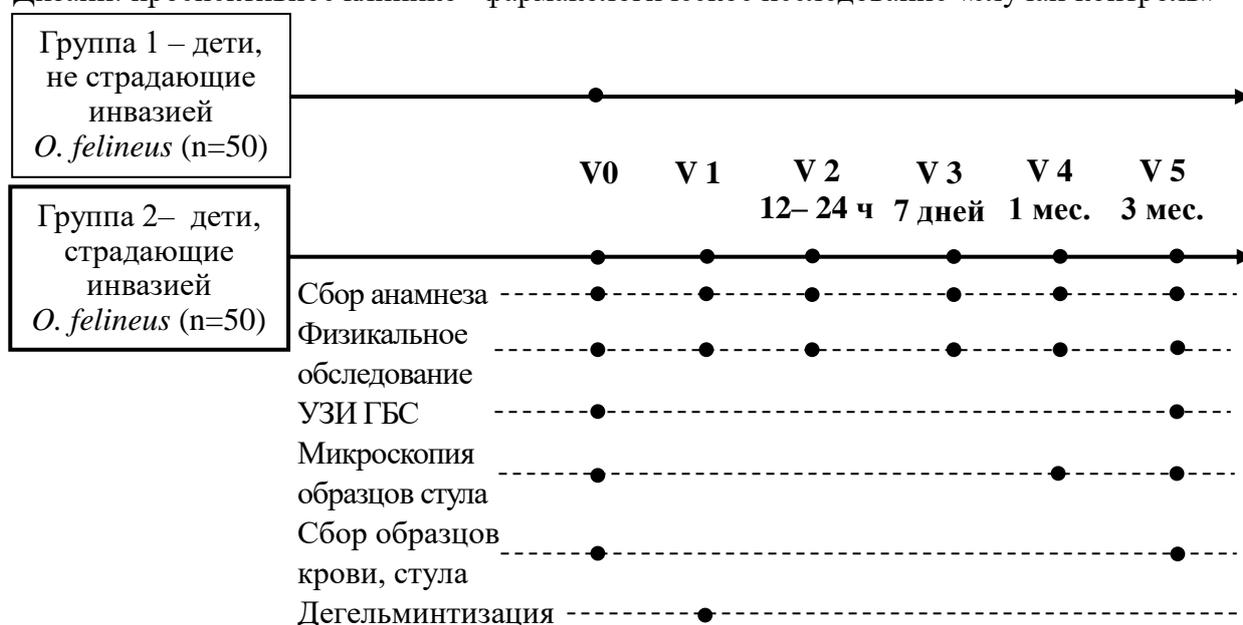
1 Скрининговый этап

Дизайн: одномоментное исследование в рандомизированной выборке



2 Клинико– фармакологический этап

Дизайн: проспективное клинико– фармакологическое исследование «случай контроль»



3 Этап исследования микробиоты кишечника

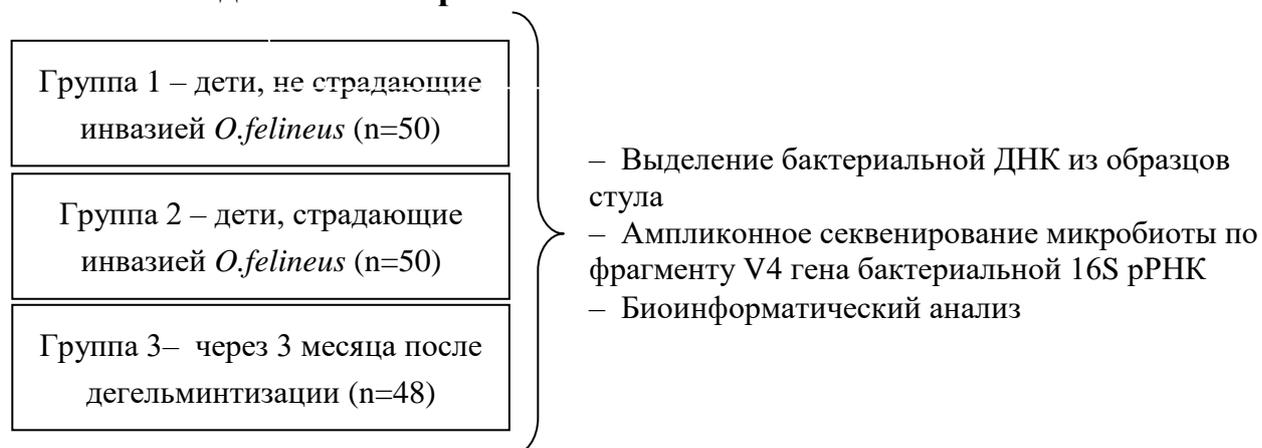


Рисунок 1 – Схема этапов и дизайн исследования

2.1 Скрининговый этап исследования

Первый этап исследования выполнен в рамках «Эпидемиологического исследования распространенности инвазии *Opisthorchis felineus* в Томской области» в период с июля 2016 г. по апрель 2018 г. Протокол эпидемиологического исследования разработан совместно со Швейцарским Институтом тропической медицины и общественного здоровья, г. Базель, Швейцария, и одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заключение от 27 июня 2016 г., регистрационный номер 4815).

2.1.1 Выбор региона

Эпидемиологическое исследование проводили в Шегарском районе Томской области. Шегарский район расположен в 60 км западнее от областного центра г. Томска. На территории района насчитывается 37 населенных пунктов, шесть сельских поселений, численность населения 19 811 человек, в том числе детей 3 882. Административный центр – село Мельниково. Общая площадь Шегарского района в настоящее время составляет 5 029 км². Южная часть Шегарского района занята, в основном, сельскохозяйственными угодьями. Север и северо– запад занимают таёжные леса и болота. В 4 км восточнее от с. Мельниково протекает важная водная артерия Западной Сибири река Обь. На территории района протекает река Шегарка – левый приток Оби, которая имеет 19 притоков в виде мелких рек и ручьев.

Шегарский район имеет важное значение в области как крупный производитель сельскохозяйственной продукции и важный автотранспортный узел. Местное население проводит сбор лесных дикоросов, в том числе грибов и ягод. Богатые водные ресурсы рек и озер на территории района способствуют широкому распространению рыболовства. В социологическом исследовании показано, что речная рыба является важным компонентом питания [187].

Шегарский район обладает развитой медицинской службой, которая включает Шегарскую районную больницу, отделения общей врачебной практики

и фельдшерско–акушерские пункты. В районной больнице функционируют хирургическое, терапевтическое, инфекционное и детское отделения, также присутствуют диагностические подразделения: клиническая и биохимическая лаборатория, кабинеты ультразвуковой диагностики, эндоскопии, микробиологических исследований, рентгенодиагностики, функциональной диагностики, восстановительной терапии. В отдаленных населенных пунктах медицинская помощь населению оказывается в пунктах общей врачебной практики (ОВП) и фельдшерско–акушерских пунктах (ФАП).

Таким образом, в Шегарском районе представлен типичный для Томской области образ жизни (большинство населения занято в сельскохозяйственной и деревообрабатывающей промышленности, широко распространен рыбный промысел), что позволило сформировать репрезентативную выборку для изучения эндемичной патологии.

2.1.2 Характеристика выборки

Для формирования выборки участников методом рандомизации были выбраны 9 из 37 населенных пунктов Шегарского района Томской области. На основании медицинской документации о составе прикрепленного населения ФАП или ОВП, паспортов участков подготовлены списки подворий (указание улиц, номеров домов), которые не содержали персональные данные жителей. По данным спискам выполнена рандомизация и сформированы перечни подворий ($n = 388$) для рекрутизации жителей. Общая численность выборки жителей в выбранных подворьях составила 600 человек, в том числе включено 85 детей в возрасте 7–18 лет. В данной работе представлены результаты обследования детей, включенных в состав выборки эпидемиологического исследования. Детальная схема формирования выборки скринингового этапа представлена на рисунке 2.

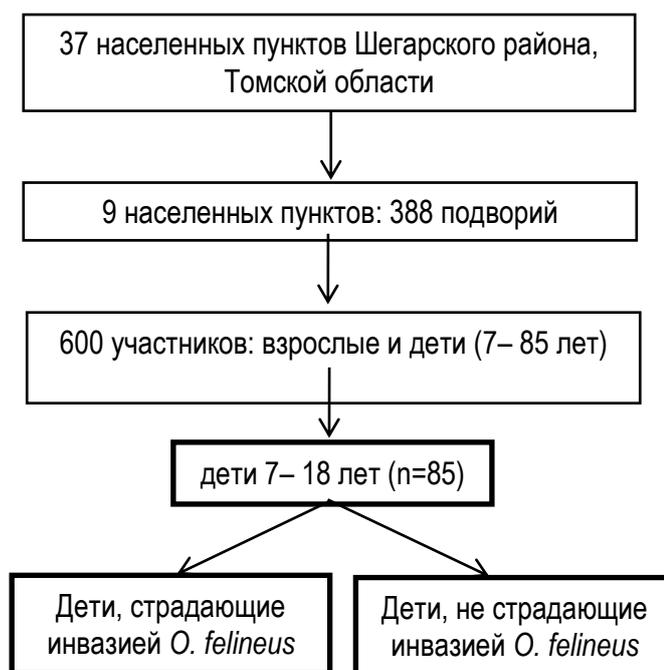


Рисунок 2 – Схема скринингового этапа

В рамках скринингового этапа предусмотрен один визит, включающий оценку соответствия пациента критериям включения/исключения, подписание информированного согласия (после ознакомления с формой информированного согласия, дети старше 14 лет давали письменное согласие на участие в исследовании самостоятельно, для детей 7–13 лет согласие подписывали законные представители: родители/опекуны) и выполнение процедур исследования.

Критерии включения скринингового этапа:

1. Дети от 7 до 18 лет, проживающие в Шегарском районе Томской области.
2. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения скринингового этапа:

1. Наличие клинически значимых неконтролируемых состояний или заболеваний, которые, по мнению исследователя, могут повлиять на участие пациента в исследовании и/или проведении каких-либо процедур и интерпретации результатов в рамках исследования.
2. Отказ от участия в исследовании.

2.1.3 Методы исследования скринингового этапа

На данном этапе применены следующие методы исследования:

1. Клинико–анамнестические: сбор медицинского анамнеза и заполнение индивидуальной регистрационной карты (ИРК); интервьюирование участников исследования по клиническому вопроснику, содержащему разделы о демографических, социокультурных, медицинских данных; физикальное обследование;
2. Лабораторные: биохимический анализ крови;
3. Инструментальные: ультразвуковое исследование гепатобилиарной системы;
4. Паразитологические: двукратная микроскопия образцов стула с определением интенсивности инвазии.

2.2 Клинико–фармакологический этап исследования

В соответствии с целью и задачами исследования для оценки влияния антигельминтной терапии на динамику состава микробиоты кишечника в результате клинико–фармакологического этапа сформированы следующие группы: 1 – дети, не страдающие инвазией *O. felineus*, а также не имеющие острых и хронических болезней ($n = 50$, средний возраст $10,3 \pm 2,8$ лет, соотношение девочек и мальчиков 1,4:1), 2 – дети, страдающие инвазией *O. felineus* ($n = 50$, средний возраст $11 \pm 3,4$ лет, соотношение девочек и мальчиков 2,3:1), проходившие лечение на базе гастроэнтерологического отделения ОГБУЗ «Областная детская больница» и Детской клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск.

Критерии включения в группу детей, не страдающих инвазией *O. felineus* (группа 1):

1. Дети от 7 до 18 лет, проживающие в Томской области.
2. Отсутствие инвазии *O. felineus* по данным паразитологического и серологического исследования.

3. Отсутствие ранее установленных тяжелых хронических заболеваний, таких как, злокачественные новообразования, сахарный диабет, хронические заболевания сердца, печени или почек, неврологических и психиатрических расстройств.

4. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения для группы детей, не страдающих инвазией *O. felineus* (группа 1):

1. Наличие в анамнезе факторов, способных изменить состояние микробиоценоза кишечника: прием антибактериальных препаратов или других антимикробных средств в течение трех месяцев, предшествующих исследованию; длительный прием системных глюкокортикостероидных препаратов; прием эубиотиков в течение одного месяца до начала исследования; кишечные инфекции в течение одного месяца до начала исследования.

2. Наличие в анамнезе инвазии *O. felineus* и / или другой гельминтной инвазии.

3. Наличие клинически значимых состояний или заболеваний, которые, по мнению исследователя, могут повлиять на участие пациента в исследовании и/или проведении каких-либо процедур и интерпретации результатов в рамках исследования.

1. Отсутствие подписанного информированного согласия.

Критерии включения в группу детей, страдающих инвазией *O. felineus* (группа 2):

1. Дети от 7 до 18 лет, проживающие в Томской области, с подтвержденной инвазией *O. felineus* (по результатам микроскопии стула).

2. Отсутствие ранее установленных тяжелых хронических заболеваний, таких как, злокачественные новообразования, сахарный диабет, хронические заболевания сердца, печени или почек, неврологических и психиатрических расстройств.

3. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения для группы детей, страдающих инвазией *O. felineus* (группа 2):

1. Наличие в анамнезе факторов, способных изменить состояние микробиоценоза кишечника: прием антибактериальных препаратов или других антимикробных средств в течение трех месяцев, предшествующих исследованию; длительный прием системных глюкокортикостероидных препаратов; прием эубиотиков в течение одного месяца до начала исследования; кишечные инфекции в течение одного месяца до начала исследования.
2. Наличие клинически значимых состояний или заболеваний, которые, по мнению исследователя, могут повлиять на участие пациента в исследовании и/или проведении каких-либо процедур и интерпретации результатов в рамках исследования.
3. Отсутствие подписанного информированного согласия.

2.2.1 Методы исследования и описание визитов клинико-фармакологического этапа

На данном этапе применены следующие методы исследования:

1. Клинико-anamнестические: сбор медицинского анамнеза и заполнение индивидуальной регистрационной карты; интервьюирование участников исследования по клиническому вопроснику, содержащему разделы о демографических, социокультурных, медицинских данных; физикальное обследование;
2. Лабораторные: биохимический анализ крови, общий анализ крови;
3. Инструментальные: ультразвуковое исследование гепатобилиарной системы;
4. Паразитологические: микроскопия образцов стула с определением интенсивности инвазии.

Исследование включало шесть визитов для детей с подтвержденной инвазией *O. felineus* и получивших лечение празиквантелом. Первый (скрининговый) визит проводили не ранее двух дней до включения в исследование и выполняли следующие процедуры: подписание информированного согласия, сбор жалоб и анамнеза, оценку медицинской документации, в том числе амбулаторной карты, интервьюирование пациента и

его родителей/законных представителей, оценку критериев включения и исключения. При согласии на участие в исследовании выполняли сбор образцов стула для паразитологического исследования и выделения бактериальной ДНК, сбор образцов крови, ультразвуковое исследование органов брюшной полости. Второй визит выполняли в день проведения дегельминтизации. На третьем и четвертом визитах оценивали динамику жалоб пациентов, данные физикального обследования. На пятом (через один месяц) и шестом (через три месяца) визитах проводили сбор образцов стула для контрольного паразитологического исследования, а также для выделения бактериальной ДНК и исследования микробиоты на шестом визите (таблица 5).

Таблица 5 – График визитов клинико–фармакологического этапа

Процедуры	Визит 0	Визит 1	Визит 2	Визит 3	Визит 4	Визит 5
Срок проведения	–	0	12–24 часа	7 дней	1 месяц	3 месяца
Подписание информированного согласия	x	–	–	–	–	–
Оценка критериев включения/исключения	x	x	x	x	x	x
Микроскопия образцов стула	x	–	–	–	x	x
Сбор образцов стула для исследования микробиоты	x	–	–	–	–	x
Заполнение ИРК	x	x	x	x	x	x
Физикальный осмотр	x	x	x	–	x	x
Сбор образцов крови	x	–	–	–	–	–
Ультразвуковое исследование	x	–	–	–	–	x
Дегельминтизация празиквантелом	–	x	–	–	–	–

2.2.2 Дегельминтизация празиквантелом и наблюдение пациентов

Антигельминтная терапия проведена зарегистрированным лекарственным средством – празиквантел в дозе 60 мг/кг массы тела в три приема с интервалом четыре часа. Протокол лечения разработан на основании «Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным описторхозом» (код протокола 91500.11.В66.0.01–2014) [19].

Регистрацию нежелательных явлений после приема празиквантела проводили в течение 24 часов. Клиническую эффективность дегельминтизации оценивали по динамике жалоб и симптомов на визитах через неделю, один и три месяца. Лабораторную эффективность оценивали по исчезновению яиц *O. felineus* в образцах стула по результатам микроскопии. Критерием отсутствия гельминтов являлись отрицательные результаты двукратного исследования образцов стула (через один и три месяца после дегельминтизации).

2.3 Этап исследования микробиоты кишечника

Для исследования микробиоты кишечника по результатам клинико-фармакологического этапа сформированы следующие группы: 1 – дети, не страдающие инвазией *O. felineus* (n = 50), 2 – дети, страдающие инвазией *O. felineus* (до антигельминтного лечения, n = 50) и группа 3 – пациенты через три месяца после дегельминтизации празиквантелом (n = 48). В соответствии с утвержденным протоколом исследования все участники трех групп предоставили образцы стула для дальнейшего выделения бактериальной ДНК и идентификации кишечной микробиоты.

Критерии включения в группу пациентов после дегельминтизации (группа 3):

1. Пациенты, страдающие инвазией *O. felineus*, после дегельминтизации празиквантелом и имеющие отрицательный результат при двукратной микроскопии образцов стула на наличие яиц *O. felineus* через три месяца после дегельминтизации.

2. Отсутствие острых и тяжелых хронических заболеваний.
3. Подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения для группы пациентов после дегельминтизации (группа 3):

1. Наличие в анамнезе факторов, способных изменить состояние микробиоценоза кишечника: прием антибактериальных препаратов или других антимикробных средств в течение трех месяцев, предшествующих исследованию; длительный прием системных глюкокортикостероидных препаратов; прием эубиотиков в течение одного месяца до начала исследования; кишечные инфекции в течение одного месяца до начала исследования.
2. Положительный результат при двукратной микроскопии образцов стула на наличие яиц *O. felineus* и других гельминтозов через три месяца после дегельминтизации.
3. Наличие клинически значимых состояний или заболеваний, которые, по мнению исследователя, могут повлиять на участие пациента в исследовании и/или проведении каких-либо процедур и интерпретации результатов в рамках исследования.
4. Отсутствие подписанного информированного согласия.

Выделение бактериальной ДНК из образцов стула, а также биоинформатический и статистический анализ метагеномных данных, выполняли на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий д-р мед наук, профессор Е.В. Удут). Секвенирование образцов проводили на базе лаборатории института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН и ООО «Кномикс» (г. Москва).

На данном этапе применены следующие методы исследования:

1. Выделение бактериальной ДНК из образцов стула;
2. Ампликонное секвенирование микробиоты по фрагменту V4 гена бактериальной 16S рРНК;
3. Биоинформатический и статистический анализ данных таксономического состава микробиоты кишечника.

2.4 Методы исследования

2.4.1 Клинико–анамнестические методы

Сбор анамнеза включал следующие разделы: жалобы и их детализация, перенесенные и текущие заболевания, сведения об описторхозе в анамнезе. При наличии в анамнезе у исследуемого инвазии *O. felineus*, уточнялась информация о способе диагностики (микроскопия образцов стула, дуоденальное зондирование, иммуноферментный анализ), предшествующей дегельминтизации. Полученная информация заносилась в соответствующие разделы индивидуальной регистрационной карты (ИРК).

Для оценки социально–бытового и эпидемиологического анамнеза проводили интервьюирование по индивидуальному клиническому вопроснику, разработанному совместно с научной группой «Гельминты и здоровье» Швейцарского Института тропической медицины и общественного здоровья (г. Базель, Швейцария; рук. доктор наук, профессор П. Одерматт). Данный вопросник включал следующие разделы: осведомленность об описторхозе (способы заражения, последствия и клинические проявления инвазии, способы профилактики), употребление в пищу речной рыбы; сведения о длительности проживания в эндемичном регионе; характеристика социально-бытовых условий. Мнение респондентов о распространенности, опасности, эффективности и безопасности лечения описторхоза оценивали по 5–балльной шкале.

Физикальное обследование включало в себя оценку состояния пациента, антропометрию, осмотр кожных покровов и видимых слизистых, обследование лимфатических узлов, костной, мышечной, дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочевыводящей систем. В ходе физикального обследования особое внимание уделяли симптомам поражения гепатобилиарной системы: пальпация и определение размеров печени, оценка пузырных симптомов (Кера, Ортнера, Мюсси). Измерение роста пациента проводили с помощью вертикального ростомера с ценой деления 0,1 см. Измерение массы тела

проводили с помощью электронных напольных весов. Все результаты и отклонения от нормы регистрировали в соответствующих разделах ИРК.

2.4.2 Лабораторные методы исследования

Общий анализ крови выполняли пациентам с инвазией *O. felineus* до начала антигельминтной терапии при госпитализации. С использованием гематологического анализатора определяли уровень гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов, относительное содержание нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, скорость оседания эритроцитов.

Биохимическое исследование сыворотки крови выполняли централизованно для всех участников исследования в клиничко–диагностической лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Исследование проводили при помощи автоматических биохимических анализаторов и наборов (DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Германия). Определяли следующие показатели: количество общего белка (г/л), глюкозу (ммоль/л), билирубин общий (мкмоль/л), связанной фракции билирубина (мкмоль/л), тимоловую пробу (Ед.), активность гамма–глутамилтранспептидазы (ммоль/л), аланинаминотрансферазы (Ед/л), аспартатаминотрансферазы (Ед/л), α -амилазы (Ед/л), щелочной фосфатазы (Ед/л), уровень холестерина (ммоль/л).

2.4.3 Ультразвуковое исследование гепатобилиарной системы

Ультразвуковое исследование печени и желчевыводящей системы проводили с помощью портативного ультразвукового аппарата М7 (Shenzhen Mindray Bio– Medical Electronics, Co, Ltd; регистрационное удостоверение № ФСЗ 2010/07/629 от 10.08.2010). При проведении ультразвукового исследования печени и желчевыводящей системы определяли: размеры печени, оценивали состояние паренхимы печени (нормальная, со слабым, средним, выраженным усилением эхосигнала), длину желчного пузыря натощак, изменение стенок и наличие эхогенного содержимого в желчном пузыре (сладжа, камней с измерением размеров), изменения внепеченочных желчных протоков (дилатация,

неровные стенки, утолщенные стенки). Степень перидуктального фиброза оценивали в соответствии с критериями, используемыми в эпидемиологических исследованиях в эндемичных по описторхозу районах: степень 0 – отсутствие эхо-сигналов в печени, степень 1 – эхо-сигнал в одном сегменте печени, степень 2 – эхо-сигнал в 2–3 сегментах печени и степень 3 – более чем в трех сегментах печени [50].

2.4.4 Микроскопия образцов стула

Микроскопию образцов стула проводили в диагностической лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России сертифицированным специалистом в соответствии с протоколом исследования. Для идентификации яиц *O. felineus* в кале использовали метод седиментации с применением одноразовых концентраторов «PARASEP» (Diasys Ltd, Великобритания).

Методику исследования проводили в соответствии с Методическими указаниями МУ 4.2.3145–13 «Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов», Методическими указаниями МУ 3.2.2601–10 «Профилактика описторхоза». Для исследования кала на наличие яиц гельминтов использовали метод седиментации с применением одноразовых концентраторов «PARASEP». Данный метод облегчает визуализацию яиц гельминтов, обеспечивает их качественное и количественное определение в субстрате, исключает необходимость использования дополнительных реактивов.

Для видовой идентификации яиц *O. felineus* при микроскопии препаратов использовали оценку морфологических признаков. Яйца *O. felineus* бледно-желтого или серого цвета, овальные, слегка асимметричные, размером 27–35 на 12–19 мкм. Имеют тонкую хорошо очерченную оболочку. На одном полюсе видна крышечка, отделяющаяся ровной тонкой линией, а на другом – небольшой бугорок. Оболочка перед крышечкой образует небольшой валик (виден с боков в виде незначительных выступов – «плечиков», иногда практически неразличимых), на противоположном полюсе – хорошо заметный бугорок. Внутреннее содержимое: личинка – мирацидий.

Для оценки интенсивности инвазии (число яиц *O. felineus* в одном грамме стула) использовали метод Горячева. Оценивали наличие инвазии и ее интенсивность: низкая – 0–999 яиц в одном грамме стула, средняя – 1000–9999 яиц в одном грамме стула, высокая – 10 000 и более.

2.4.5 Выделение бактериальной ДНК из образцов стула

Данную стандартную операционную процедуру выполняли на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ. ДНК выделяли по стандартному протоколу к набору FastDNA® SPIN Kit for Soil (MP Bio, США, www.mpbio.com), за исключением использования другой модели гомогенизатора по типу шаровой мельницы (Mini BeadBeater, BioSpec Products, США) и увеличения времени обработки на нем образца до трех минут.

Для выделения ДНК отбирали по 150 мг фекалий, которые затем помещали в пробирку с лизирующим матриксом, состоящим из: керамических шариков диаметром 1,4 мм, шариков из карбида кремния диаметром 0,1 мм и одного стеклянного шарика диаметром 4 мм. В пробирку с лизирующим матриксом и образцом биоматериала вносили фосфатно-солевой буфер и МТ-буфер, после чего образец гомогенизировали на приборе Mini BeadBeater (BioSpec Products, США). Затем пробирки с полученным содержимым центрифугировали в течение 10–15 минут при 14 000 x g для осаждения частиц лизирующего матрикса и клеточного дебриса, после чего супернатант переносили в новую пробирку на 2 мл.

На следующем этапе происходило осаждение белков путем добавления протеин-связывающего раствора, перемешивания и центрифугирования, после чего супернатант переносился в пробирку на 15 мл. В эти пробирки вносили ДНК-связывающий матрикс и тщательно перемешивали их на орбитальном шейкере в течение двух минут. После того, как ДНК сорбировалась на стеклянном (glassmilk) матриксе в присутствии высокой концентрации хаотропной соли, осадку давали осесть в течение трех минут, и отбирали лишний супернатант в объеме 500 мкл. Ресуспендированный в оставшемся объеме

жидкости осадок центрифугировали через колонку фильтра из набора FastDNA® SPIN Kit for Soil, а затем оставшийся на колонке осадок отмывали промывочным буфером SEWS–M (предварительно разведенным в 100 миллилитрах 100 % этанола). После отмывки осадок на фильтре просушивали при комнатной температуре, ресуспендировали в 100 мкл воды, свободной от нуклеаз, и инкубировали в течение 5 минут при 55⁰ С. Затем полученную взвесь центрифугировали, в результате чего свободная ДНК выходила в раствор.

Полученную суммарную ДНК в крио-пробирке маркировали штрих-кодом, соответствующим индивидуальному номеру пациента и образцу материала, помещали в морозильную камеру в Центральной научно-исследовательской лаборатории при температуре минус 80⁰С.

2.4.7 Секвенирование бактериальных генов 16S рРНК

Ампликонное секвенирование микробиоты по маркерному фрагменту V4 гена бактериальной 16S рРНК осуществляли согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Part #15044223 Rev. B), рекомендованному Illumina для секвенатора MiSeq. Область V4 гена 16S рРНК была амплифицирована с помощью ПЦР в первом раунде с использованием модификации штрих-кодированных праймеров F515 и R806 (GTGBCAGCMGCCGCGGTAA и GACTACNVGGGTMTCTAATCC, соответственно) в C1000 (Bio–Rad, США).

Очистка полученных ПЦР-продуктов проводилась с использованием набора Cleanup Mini (Eurogene, Россия). Концентрацию полученных библиотек 16S рРНК в растворе измеряли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, США) с использованием набора для высокочувствительного анализа dsDNA Quant–iT™ (Thermo Fisher Scientific, США). Очищенные ампликоны смешивали эквимольно в соответствии с оцененными концентрациями. Количество, приготовленное для библиотеки секвенирования, оценивали с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле. Дальнейшая подготовка образца и секвенирование образца

осуществляли с использованием набора MiSeq Reagent Kit v2 (2 × 250 циклов) и прибора MiSeq (Illumina, США) согласно рекомендациям производителя.

2.5 Статистические методы

2.5.1 Статистический анализ клинико–анамнестических данных

Для статистической обработки клинико–анамнестических данных и лабораторно–инструментальных параметров использовали пакет прикладных программ «Statistica for Windows version 10.0». Результаты исследования обработаны посредством расчета описательных статистик, использования непараметрических критериев. Распространенность заболевания и признаков рассчитаны как отношение числа лиц, у которых наблюдается данное состояние, к числу всех обследованных лиц в выборке. Вероятность развития признака определяли методом отношения шансов и приведено в виде OR (95 % CI). Различия в клинических и параклинических параметрах между группами оценивали с помощью критерия Манна–Уитни–Уилкоксона (для количественных переменных) и с помощью критерия χ^2 (для качественных переменных). Для сравнения качественных данных в связанных выборках (до и после лечения) использовали критерий Уилкоксона. Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные – с учетом вида распределения данных: при нормальном распределении в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартное отклонение, при распределении, отличном от нормального – Mediana (Q25; Q75), Mediana – медиана значений, Q25 и Q75 – верхний и нижний квартиль соответственно. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

2.5.2 Биоинформатический анализ метагеномных данных

Таксономический анализ прочтений секвенатора осуществляли с использованием программного обеспечения QIIME2 версия 2019.1.0 [65]. Для всех прочтений проводили фильтрование по качеству с порогом в 30 баллов

phred, дупликацию, а также de novo идентификацию и удаление химерных последовательностей. Пригодные прочтения кластеризовали по сходству (не менее 99 %) с базой данных SILVA 132 с использованием алгоритма q2-vsearch. Таксономическую классификацию кластеров осуществляли с использованием плагина q2-feature-classifier в основе которого лежит использование наивного байесовского классификатора, обученным на области 515F / 806R последовательностей гена 16S рРНК из базы данных SILVA 132. После классификации, проводили идентификацию и исключение операционных таксономических единиц (ОТЕ) бактерий-контаминантов и исключение образцов, содержащих менее 5000 ОТЕ / образец и бактерий-контаминантов. Затем проводили расчет индексов таксономического разнообразия Шеннона, Фэйта, числа разновидностей ОТЕ (Observed OTUs). Для расчета β -разнообразия использовали плагин DEICODE QIIME 2. Затем применяли неметрическое многомерное шкалирование в трех измерениях с использованием специализированной метрики Aitchison.

2.5.3 Статистический анализ данных состава кишечной микробиоты

Статистический анализ проводили с использованием языка программирования R версии 3.6.1. Анализ ассоциаций между α -разнообразием, наличием инвазии и влиянием терапии проводили с использованием линейной смешанной регрессии. В качестве зависимой переменной использовали индексы α -разнообразия, в качестве фиксированных эффектов – статус по наличию инвазии (здоров, болен, после дегельминтизации) и возраст, а в качестве случайного эффекта – обезличенный идентификатор пациента. Связь между интенсивностью инвазии и индексами α -разнообразия оценивали с использованием метода отрицательной биномиальной регрессии в группе пациентов с инвазией *O. felineus*. В качестве зависимой переменной использовали количество яиц *O. felineus* на грамм стула.

Для определения достоверности попарного различия сообществ по составу микробиоты и вклада исследуемых параметров в данное различие использовали

парный пермутационный (перестановочный) дисперсионный анализ с оценкой значимости при 9999 перестановках.

Идентификацию ассоциаций между представленностью микроорганизмов и статусом по наличию инвазии проводили на прореженных данных, агрегированных по семействам, родам и видам. В анализ брали те флотипы, которые присутствовали не менее чем в 10 % образцов и представленностью больше 0,01 % от состава метагенома в каждом образце. Анализ численности таксонов проводили с использованием обобщенной линейной смешанной модели с предположением об отрицательном биномиальном распределении зависимой переменной – представленности бактерий. Статус инвазии был выбран как фиксированный эффект, а идентификатор пациента – как случайный эффект. Все модели были проверены с помощью ANOVA II– типа; для значимых моделей предельные средние значения были рассчитывали в каждой группе и проводили дополнительный анализ Тьюки. Поправка на множественное сравнение методом FDR проводилась отдельно для каждой группы моделей. Различия считались достоверными при $p < 0,05$ после применения поправки. Визуализация, в том числе создание графиков и тепловых карт, выполнена с помощью пакета ggplot2.

Обобщенные данные о количестве выполненных процедур на каждом этапе исследования представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Методы и количество выполненных процедур на этапах исследования

Методы исследования	Скрининговый этап, n = 85	
	Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 15)	Дети, не страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 70)
Сбор анамнеза и интервьюирование	15	70
Физикальное обследование	15	70
Биохимическое исследование крови	15	70
УЗИ гепатобилиарной системы	15	70

Продолжение таблицы 6

Микроскопия образцов стула	30	140	
Методы исследования на визитах 0–5	Клинико–фармакологический этап, n = 100		
	Группа 1 – контроль (n = 50)	Группа 2 – дети с инвазией <i>O. felineus</i> (n = 50)	
Сбор анамнеза и интервьюирование	50	50	
Физикальное обследование	50	50	
Биохимическое исследование крови	50	50	
Общий анализ крови	–	50	
УЗИ гепатобилиарной системы (визит 0)	50	50	
УЗИ гепатобилиарной системы (визит 5)	–	98	
Микроскопия образцов стула, двукратно (визит 0)	100	100	
Микроскопия образцов стула, двукратно (визит 4)	–	98	
Микроскопия образцов стула, двукратно (визит 5)	–	98	
Методы исследования	Этап исследования микробиоты, n = 148		
	Группа 1 (n = 50)	Группа 2 (n = 50)	Группа 3 (n = 48)
Выделение бактериальной ДНК из образцов стула	50	50	48
Секвенирование бактериальных генов 16S рРНК	50	50	48

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СКРИНИНГОВОГО ЭТАПА

3.1 Клиническая характеристика участников исследования

Для актуализации данных о распространенности и интенсивности инвазии *O. felineus* у детей в эндемичном регионе в рамках «Эпидемиологического исследования распространенности инвазии *O. felineus* в Томской области» сформирована выборка детского населения в возрасте 7–18 лет. Данный этап выполнен в дизайне одномоментного исследования в рандомизированной выборке. Для формирования выборки участников методом рандомизации были выбраны 9 из 37 населенных пунктов Шегарского района, в каждом из которых были сформированы перечни подворий для рекрутизации жителей. Общее количество участников составило 600 жителей в возрасте от 7 до 85 лет. Для анализа клинико–anamnestических, лабораторных и инструментальных данных сформирована выборка из 562 участников, предоставивших образцы стула для исследования на наличие яиц *O. felineus*. В данной главе представлены результаты обследования 85 детей, включенных в состав выборки эпидемиологического исследования (таблица 7).

Таблица 7 – Распределение участников эпидемиологического исследования по полу и возрасту (общая выборка, дети, взрослые)

Группы	Общая выборка		Мужской пол		Женский пол	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Всего	563	100	165	29	398	71
Взрослые (19-85 лет)	478	85	130	27	348	73
Дети (7-18 лет)	85	15	35	41	50	59
7–11 лет	47	8,3	19	40	28	60
12–18 лет	38	6,7	16	42	22	58

В таблице 8 представлено распределение участников исследования в зависимости от населенного пункта района. В каждом выбранном населенном пункте количество участников для включения в исследование рассчитывали в зависимости от общего числа прикрепленного населения. Однако, в некоторых населенных пунктах района, ввиду малой численности населения детского возраста, в рандомизированных подворьях дети не проживали и, соответственно, не были включены в исследование.

Таблица 8 – Распределение участников эпидемиологического исследования в зависимости от населенного пункта (общая выборка, дети)

Населенный пункт	Общая выборка, n = 563		Дети, n = 85	
	абс.	%	абс.	%
Мельниково	230	40,9	36	42,3
Победа	129	22,9	20	23,5
Баткат	55	9,8	11	12,9
Вороновка	38	6,7	12	14,0
Новоильинка	27	4,8	–	–
Каргала	25	4,4	4	4,7
Монастырка	21	3,7	2	2,6
Малобрагино	20	3,6	–	–
Вознесенка	18	3,2	–	–

Средний возраст детей, включенных в исследование, составил 11 ± 3 лет. Доля мальчиков, включенных в исследование, была равна 41 % (n = 35), девочек – 59 % (n = 50).

По данным опроса детей и их родителей/опекунов выявлено, что наиболее распространенной патологией были болезни органов пищеварения (8,2 %), в том числе хронический гастродуоденит – 3,5 %, дискинезия желчного пузыря и желчных путей – 3,5 %, желчекаменная болезнь – 1,2 %. Реже регистрировали

наличие в анамнезе атопического дерматита (2,4 %), бронхиальной астмы (3,5 %), хронического тонзиллита (5,9 %), железодефицитной анемии (2,4 %).

Таким образом, для исследования распространенности инвазии *O. felineus* сформирована репрезентативная выборка детского населения, которая позволит экстраполировать полученные данные на эндемичный регион в целом.

3.2 Анамнестические данные

Все участники детского возраста, включенные в исследование, являлись коренными жителями Томской области, кроме двух детей, проживающих ранее в Красноярском крае и Новосибирской области. Большинство участников (90,6 %) с рождения проживали в Шегарском районе и только шесть человек мигрировали из других районов Томской области (г. Томск, Кожевниковский и Асиновский районы). При этом среди детей с установленной в настоящем исследовании инвазией *O. felineus* 13 (92,8 %) с рождения проживали в Шегарском районе, один участник прибыл в район в возрасте 10 лет.

Результаты опроса детей и их родителей/опекунов показали, что описторхоз ранее диагностирован только у шести детей (7 %). В четырех случаях диагноз подтвержден на основании обнаружения яиц *O. felineus* при микроскопии стула, в двух других случаях по результатам иммуноферментного анализа и дуоденального зондирования. При этом дегельминтизация празиквантелом проведена только двоим пациентам в течение одного года после выявления инвазии. В настоящем исследовании у этого ребенка подтверждена реинвазия. Трое детей (8, 9 и 13 лет) получали биологически активные добавки на основе коры осины. Одному подростку лечение описторхоза не проводили и, таким образом, длительность инвазии составила более двух лет.

Нами проведен анализ употребления респондентами речной рыбы как основного пути инвазирования *O. felineus*. Из опрошенных детей 65 (76,5 %) сообщили, что регулярно употребляют в пищу речную рыбу, в том числе семейства карповых. Среди детей с установленной инвазией *O. felineus* этот показатель составил 86,7 %. Большинство участников (96,5 %) указали, что

другие члены семьи используют в своем рационе речную рыбу. Около половины респондентов, употребляющих речную рыбу, указали на регулярное использование в пищу термически необработанной рыбы (рисунок 3).

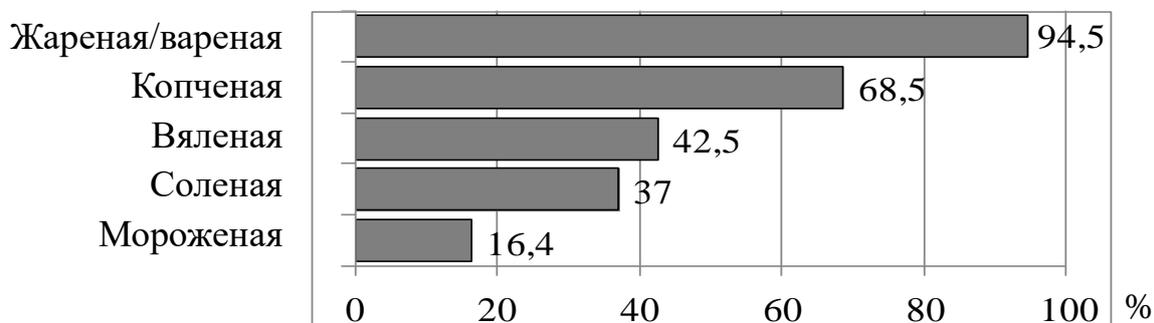


Рисунок 3 – Используемые виды кулинарной обработки рыбы в выборке детей 7-18 лет

По результатам опроса наиболее часто употребляемыми видами рыб являлись карась, елец, щука, окунь. При этом около 20 % респондентов употребляют в пищу речную рыбу 2–3 раза в неделю.

3.3 Осведомленность детей об инвазии *Opisthorchis felineus*

Общие представления об описторхозе оценивали по результатам интервьюирования с использованием вопросника, разработанного для социологического исследования о факторах риска распространения этого гельминтоза [155]. На вопрос «Вы когда-нибудь слышали об описторхозе?» 59 % детей ответили положительно, при этом среди участников с наличием инвазии только 50 % знали и слышали об этом заболевании. Дети в возрасте 7–18 лет имели низкую осведомленность об инвазии *O. felineus* по сравнению со взрослыми в возрасте 19 лет и старше (63,5 % против 98,6 %; OR 39,1; CI95 % 15,5– 98,2). При этом в группе детей в возрасте 7–10 лет данный показатель статистически значимо ниже, чем в возрасте 11–18 лет – 42,2 и 74 % соответственно (OR = 2,2; 95 % CI 1,3–3,8; p = 0,001).

Анализ данных интервьюирования показал, что дети имеют неверные представления о путях заражения описторхозом и способах профилактики. Так,

только 35,8 % респондентов указали, что потребление речной рыбы в термически необработанном виде является основной причиной описторхоза. Среди возможных способов заражения респонденты также указывали питье неочищенной воды из водоемов (31,6 %), «через грязные руки» (27,6 %), контакт с больными людьми (29 %) и инфицированными животными (38,2 %). Данные показатели не различались в зависимости от возраста или наличия инвазии.

Среди тех, кто осведомлен об описторхозе, предположили, что заражение может быть эффективно предотвращено путем правильного приготовления рыбы (48,9 %) и исключения из рациона речной рыбы (42,5 %).

Среди других методов профилактики описторхоза указывали: использование отдельной кухонной утвари для приготовления рыбы, регулярное мытье рук (40,9 %), кипячение воды (32,9 %) и исключение из пищи любых видов рыбы (8 %). Следует отметить, что 8,5 % опрошенных детей считали невозможным предупреждение инвазии в эндемичном регионе.

3.4 Распространенность и интенсивность инвазии *Opisthorchis felineus*

Согласно результатам одномоментного эпидемиологического исследования, инвазия *O. felineus* установлена у 17,6 % детей (11,6 % – в группе детей 7–10 лет, 23,8 % – в группе детей 11–18 лет; $p = 0,1$; таблица 9).

Таблица 9 – Характеристика участников исследования в зависимости от наличия инвазии *O. felineus*

Возраст, лет	Всего (n = 85)		Дети, не имеющие инвазии <i>O. felineus</i> (n = 70)		Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 15)	
	n	%	n	%	n	%
7–10	43	50,6	38	88,4	5	11,6
11–18	42	49,4	32	76,2	10	23,8

Различий по гендерному признаку в зависимости от наличия или отсутствия инвазии *O. felineus* у детей не установлено. В целом, результаты эпидемиологического исследования в эндемичном регионе свидетельствуют, что

распространенность инвазии *O. felineus* наименьшая в популяции детей 7–10 лет, и увеличивается с возрастом, достигая максимальных значений в когорте взрослых в возрасте 30–40 лет в соответствии с рисунком 4 [131].

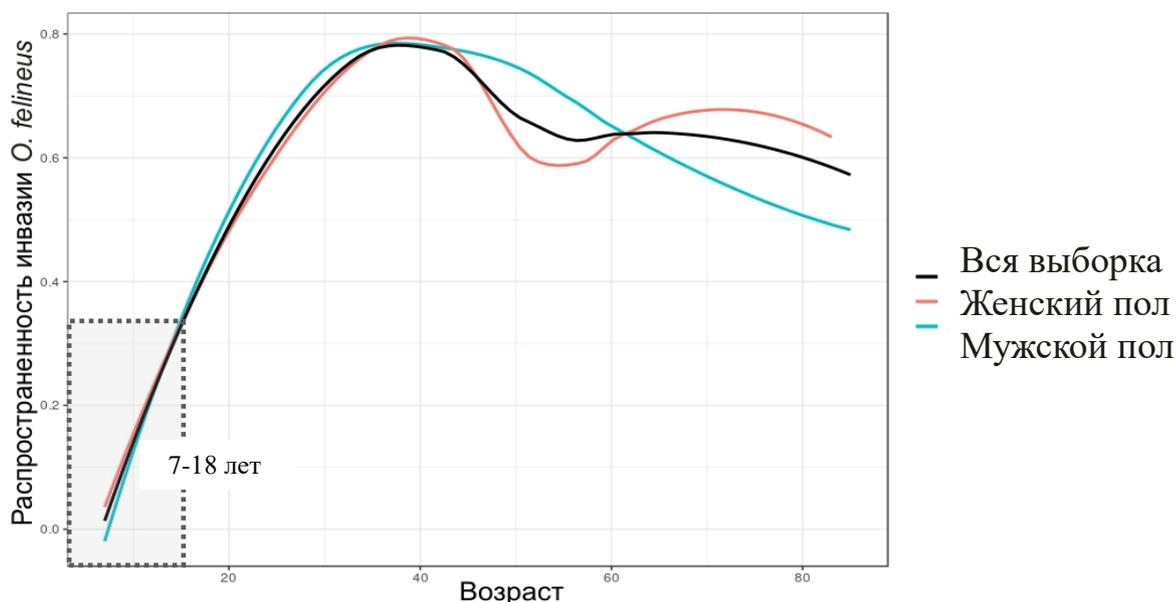


Рисунок 4 – Распространенность инвазии *O. felineus* в общей выборке эпидемиологического исследования в зависимости от возраста и пола участников

Нами выполнен анализ интенсивности инвазии *O. felineus*, которую оценивали по количеству яиц в грамме стула. Интенсивность инвазии *O. felineus* варьировала в диапазоне 2–3800 яиц гельминта в грамме фекалий (среднее значение $321 \pm 969,2$), превалировала низкая интенсивность инвазии (≤ 999 яиц в грамме стула – 93,3 %).

Распространенность и интенсивность инвазии *O. felineus* различались в зависимости от географического расположения населенного пункта и образа жизни населения. Так, наиболее высокие показатели распространенности выявлены в селах Монастырка (100 %) и Каргала (75 %). Относительно низкую распространенность отмечали в селе Вороновка (16,7), которое расположено на значительном расстоянии от реки Обь и крупных озер. В селе Мельниково – административном центре района, несмотря на близость крупной реки, распространенность и интенсивность инвазии были относительно ниже, что связано с урбанизированным образом жизни населения.

По результатам копроовоскопии у 6 (7,1 %) участников выявлена другая гельминтная инвазия: *A. lumbricoides* (3,5 %) и *Giardia intestinalis* (4,7 %).

3.4 Клиническая характеристика исследуемой выборки

Среди наиболее распространенных жалоб у детей, инфицированных *O. felineus*, были боли в животе (80 %), но статистическая значимость в сравнении с участниками без описторхоза не достигнута. Наличие положительных пузырных симптомов (Кера, Мерфи) чаще регистрировали у детей, страдающих описторхозом в сравнении с детьми без инвазии (OR = 3,7; 95 % CI 1,1–12,3; $p = 0,03$). Жалобы на периодическую тошноту чаще наблюдались у детей *O. felineus* – в 73,3 % случаев (OR = 1,8; 95 % CI 1,2–2,8; $p = 0,01$).

Также дети, страдающие описторхозом, чаще предъявляли жалобы на слабость, повышенную утомляемость (OR = 1,9; 95 % CI 1,1–3,3; $p = 0,02$), нарушения стула, характеризующиеся задержкой (типы 1 или 2 согласно Бристольской шкале формы кала) или разжижением стула (типы 5,6). Жалобы на головную боль, снижение аппетита, горький привкус во рту отмечали у детей независимо от наличия инвазии и данные симптомы не были специфичны для описторхоза. Кожные высыпания эритематозно–папулезного характера и зуд в анамнезе и при объективном осмотре чаще регистрировали у детей, не имеющих инвазии *O. felineus*, однако различия статистически не значимы.

Анализ результатов клинического обследования участников скринингового этапа представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Основные клинические симптомы у детей в зависимости от наличия инвазии *O. felineus*

Клинические симптомы	Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 15)		Дети, не имеющие инвазии <i>O. felineus</i> (n = 70)		p*
	n	%	n	%	
Боль в правом подреберье	5	33,3	15	21,4	0,17
Боль в животе другой локализации	7	46,7	26	37,1	0,25
Положительные пузырьные симптомы (Кера, Мерфи)	4	26,7	5	7,1	0,03
Тошнота	11	73,3	28	40,0	0,01
Снижение аппетита	9	60,0	25	35,7	0,06
Горький привкус	5	33,3	13	18,6	0,12
Нарушения стула (запор или разжижение)	6	40,0	11	15,7	0,03
Головные боли	10	66,6	31	44,3	0,06
Утомляемость, слабость	9	60,0	22	31,4	0,02
Сыпь на коже и зуд	1	6,7	17	24,3	0,07
Примечание – * p – достигнутый уровень значимости (критерий χ^2), различия между группами достоверны при значении $p < 0,05$.					

При обследовании у всех участников исследования изучали основные биохимические показатели, характеризующие состояние печени (таблица 11). По результатам биохимического анализа исследуемые показатели у всех детей находились в пределах референсных значений.

Таблица 11 – Сравнительная характеристика биохимических показателей сыворотки крови в исследуемых группах

Исследуемые показатели	Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 15)	Дети, не имеющие инвазии <i>O. felineus</i> (n = 70)	p*
Билирубин общий, мкмоль/л	13 (10,4–14,8)	14,6 (11,7–17,7)	0,18
Билирубин конъюгированный, мкмоль/л	2,6 (2,3–2,7)	2,8 (2,5–3,2)	0,06
Общий белок, г/л	69,5 (68–76)	76 (73–78)	0,01
Глюкоза, ммоль/л	4 (3,6–4,1)	4,1 (3,6–4,6)	0,19
Аспартатаминотрансфераза (АСТ), Ед/л	19,5 (17–22)	19 (15–24)	1,00
Аланинаминотрансфераза, (АЛТ), Ед/л	7 (6–11)	9 (7–12)	0,20
Щелочная фосфатаза, Ед/л	133,5 (80–220)	189 (142–250)	0,10
Гамма–глутамилтранспептидаза (Гамма–ГТ), Ед/л	12,5 (11–17)	14 (11–16)	0,98
Примечание – * p – достигнутый уровень значимости (U– критерий Манна–Уитни), различия между группами достоверны при значении $p < 0,05$.			

По данным ультразвукового исследования печени и желчевыводящей системы у детей, страдающих описторхозом, в сравнении с неинфицированными участниками достоверно чаще выявляли патологические особенности желчного пузыря, являющиеся признаками хронического холецистита: утолщение и неровность стенки желчного пузыря, наличие эхогенного содержимого в желчном пузыре (71,4 % и 37,1 % соответственно, OR = 1,9; 95 % CI 1,2–3,1; $p = 0,012$). Желчекаменная болезнь выявлена только в одном случае (девочка, 16 лет, инвазия *O. felineus* не выявлена). Косой вертикальный размер печени и длинник желчного пузыря по данным ультразвукового исследования значимо не различались у детей с инвазией, так и без нее (таблица 12).

Таблица 12 – Сравнительная характеристика показателей ультразвукового исследования гепатобилиарной системы в исследуемых группах

Исследуемые показатели	Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 15)	Дети, не имеющие инвазии <i>O. felineus</i> (n = 70)	p*
Косой вертикальный размер печени, мм	116 (96–140)	116 (106–128)	0,92
Размер желчного пузыря (длинник), мм	59 (56–63)	60 (54–69)	0,63
Примечание – * p – достигнутый уровень значимости (U–критерий Манна– Уитни) различия между группами достоверны при значении $p < 0,05$.			

Перидуктальный фиброз внутрипеченочных протоков первой степени выявлен у 26,7 % участников с подтвержденной инвазией и у 8,6 % без инвазии (OR = 3,1; 95 % CI 1,1–9,7; $p = 0,04$). Следует отметить, что признаки перидуктального фиброза регистрировали только у подростков старше 12 лет.

Обследование участников также включало определение суммарных антител к антигенам *O. felineus* в сыворотке крови. Так, положительную реакцию отмечали у большинства детей с верифицированным описторхозом по данным микроскопии образцов стула, а также у 22,6 % участников с отрицательным результатом микроскопии образцов стула. Наличие положительной реакции у других участников исследования вероятно связано с тем, что все дети с рождения проживали в эндемичном регионе. С другой стороны, это может быть признаком инвазии низкой интенсивности.

Таким образом, в соответствии с результатами скринингового этапа (одномоментное эпидемиологическое исследование), распространенность инвазии *O. felineus* у детей, проживающих в эндемичном регионе Западной Сибири (Томская область), составляет 17,6 % и имеет тенденцию к увеличению с возрастом (11,6 % – в группе детей 7–10 лет, 23,8 % – в группе детей 11–18 лет). В детском возрасте превалирует низкая интенсивность инвазии (93,3 %).

Анализ результатов интервьюирования выявил, что детское население не имеет достаточно знаний о способах заражения и профилактики инвазии *O. felineus*. Так, осведомленность об описторхозе детского населения составила 63,5 %, при этом в группе детей в возрасте 7–10 лет данный показатель статистически значимо ниже, чем в возрасте 11–18 лет – 47,4 и 76,3 % соответственно (OR = 3,6; 95 % CI 1,34–9,56; p = 0,01). В то же время осведомленность в группе детей почти в два раза ниже по сравнению со взрослыми (63,5 % против 98,6 %, OR = 39,1; CI95 % 15,5– 98,2). Большинство детей регулярно употребляют в пищу речную рыбу (76,5 %), в том числе в термически необработанном виде.

Результаты клинического обследования показали, что в большинстве случаев у детей развивается клинически выраженная форма болезни (80 %). Так, дети, страдающие описторхозом, чаще предъявляли жалобы на диспептические проявления, нарушения стула, слабость, повышенную утомляемость, чем дети без инвазии *O. felineus*. При исследовании биохимических показателей не выявлено значимых изменений поражения гепатобилиарной системы у детей с инвазией *O. felineus*. Вероятно, это отсутствие изменений связано с тем, что в детском возрасте превалирует низкая интенсивность и меньшая продолжительность инвазии. По данным ультразвукового исследования печени и желчевыводящей системы у детей, страдающих описторхозом, в сравнении с неинфицированными участниками чаще выявляли следующие изменения: наличие эхогенного содержимого в желчном пузыре и утолщение и неровность его стенок (71,4 % и 37,1 % соответственно, OR = 1,9; 95 % CI 1,2–3,1; p = 0,012), перидуктальный фиброз внутрипеченочных протоков первой степени (26,7 % и 8,6 %, соответственно, OR = 3,1; 95 % CI 1,0–9,7; p = 0,04).

4 РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИКО–ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ЭТАПА

Клинико–фармакологический этап проводили на базе гастроэнтерологического отделения ОГБУЗ «Областная детская больница» (главный врач канд. мед. наук Е.Л.Тимошина) и Детской клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск (заведующий отделением канд. мед. наук Д.В. Козырицкая).

Для реализации клинико–фармакологического этапа сформированы следующие группы: 1 – дети, не страдающие инвазией *O. felineus*, а также не имеющие острых и хронических болезней ($n = 50$, средний возраст $10,3 \pm 2,8$ лет, соотношение девочек и мальчиков 1,4:1), 2 – дети, страдающие инвазией *O. felineus* ($n = 50$, средний возраст $11 \pm 3,4$ лет, соотношение девочек и мальчиков 2,3:1), 3 – пациенты через три месяца после дегельминтизации празиквантелом ($n = 48$), проходившие лечение на базе гастроэнтерологического отделения ОГБУЗ «Областная детская больница» и Детской клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск. Группы сопоставимы по полу и возрасту, что позволяет проводить сравнительный анализ полученных данных.

4.1. Клиническая характеристика участников

В структуре клинических проявлений превалировал болевой синдром (боль в животе – 92 %, в т.ч. в правом подреберье – 56 %), диспепсические проявления (изжога – 8 %, тошнота – 52 %, нарушения стула – 50 %). Реже регистрировали наличие кожных зудящих высыпаний – 24 %, головной боли – 20 %, немотивированного субфебрилитета – 4 %. По данным медицинской документации и опроса родителей у всех детей, включенных в исследование, отсутствовали ранее установленные тяжелые хронические заболевания (таблица 13).

Таблица 13 – Характеристика участников клинико–фармакологического этапа исследования

Показатель	Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 50)	Дети, не страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 50)	p
Пол, мальчики	21 (42 %)	15 (30 %)	0,36
Возраст**	11 (8,3; 13,8)	10 (8; 13)	0,46
Индекс массы тела**	17,2(15,5; 20,7)	16,6 (15,1; 18,7)	0,46
Клинические симптомы (как минимум однократно за последние 3 года)*			
Боль в правом подреберье	28 (56 %)	1 (2 %)	<0,01
Боль в животе другой локализации	41 (82 %)	7 (14 %)	<0,01
Тошнота	26 (52 %)	16 (32 %)	0,02
Зудящие высыпания на коже	12 (24 %)	4 (8 %)	0,03
Примечание – *– данные представлены в виде n – количество, % – процент в группе; p – достигнутый уровень значимости (критерий χ^2), различия достоверны при значении $p < 0,05$; **– данные представлены в виде «Mediana (Q25; Q75)»; p – достигнутый уровень значимости (U– критерий Манна–Уитни), различия достоверны при значении $p < 0,05$			

Сопутствующая патология отмечалась у 12 % детей группы неинвазированных, в том числе миопия – 4 %, головная боль напряжения – 2 %, нарушение осанки – 6 %. В группе детей, страдающих описторхозом, по данным анамнеза зарегистрированы следующие состояния: анемия легкой степени – 6 %, миопия – 4 %. Так же по данным анамнеза у детей с инвазией, так и без нее отсутствовали факторы, способствующие изменению микробиоты кишечника – прием антибактериальных или системных глюкокортикостероидных препаратов в течение трех месяцев, предшествующих исследованию; прием эубиотиков в течение одного месяца до начала исследования.

В периферической крови у 30 % детей, страдающих описторхозом, отмечалась эозинофилия (максимально до 25 %), у 4 % – анемия легкой степени тяжести. В биохимическом анализе крови детей, больных описторхозом,

регистрировали статистически значимо более высокие показатели щелочной фосфатазы, глюкозы, АЛТ, Гамма-ГТ, и снижение содержания общего белка (таблица 14). Однако, исследуемые показатели находились в пределах референсных значений в обеих группах. Лишь у троих пациентов, страдающих инвазией *O. felineus*, отмечалось повышение уровня общего билирубина в сыворотке крови (27,8; 29,7 и 37,3 мкмоль/л).

Таблица 14 – Характеристика показателей биохимического анализа крови у пациентов исследуемых групп

Показатель	Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 50)	Дети, не страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 50)	p
Общий белок, г/л	73 (70;76)	76 (73; 78)	0,01
Глюкоза, моль/л	4,6 (4,4;4,7)	4,1 (3,6; 4,6)	<0,01
Билирубин общий, мкмоль/л	14 (10,4; 14,3)	14,7 (11,7; 16,8)	0,06
Билирубин прямой, мкмоль/л	1,6 (1; 2,1)	2,8 (2,5; 3)	<0,01
Щелочная фосфатаза, Ед/л	431,5 (280,6; 582,5)	187,5 (148; 240)	<0,01
АЛТ, Ед/л	12 (10; 15)	9 (7; 11,75)	<0,01
АСТ, Ед/л	23 (18; 27)	19 (14; 24)	0,05
Гамма-ГТ, Ед/л	17,5 (15; 21)	14 (11; 16)	<0,01
Примечание – данные представлены в виде «Mediana (Q25; Q75)»; p – достигнутый уровень значимости (U– критерий Манна–Уитни), различия достоверны при значении p < 0,05.			

По данным УЗИ печени и желчевыводящей системы изменения со стороны желчного пузыря значимо чаще регистрировали у детей, страдающих инвазией *O. felineus*, в сравнении с неинвазированными (42 % и 24 %, соответственно, OR = 1,8; 95 % CI 1,0–3,2; p = 0,03). Так, у 20 % детей с описторхозом выявлено утолщение стенки желчного пузыря, у 32 % – наличие экзогенного содержимого в

желчном пузыре. Изменения паренхимы печени (неоднородность структуры, повышение эхогенности) выявлены у 6 % детей с инвазией *O. felineus* (таблица 15).

Таблица 15 – Результаты ультразвукового исследования печени и желчевыводящей системы

Показатель	Дети, страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 50)	Дети, не страдающие инвазией <i>O. felineus</i> (n = 50)	<i>p</i>
Неоднородность структуры паренхимы печени*	3 (6 %)	2 (4 %)	0,34
Изменения желчного пузыря, в том числе:	21 (42 %)	12 (24 %)	0,03
– утолщение стенки желчного пузыря*	10 (20 %)	7 (14 %)	0,22
– эхогенное содержимое в желчном пузыре*	16 (32 %)	8 (16 %)	0,03
Косой вертикальный размер печени, мм**	113 (106; 123)	114 (106; 126)	0,59
Размер желчного пузыря (длинник), мм**	65 (60; 73)	59 (55; 66)	0,06
Примечание – * – данные представлены в виде n– количество, % – процент в группе; <i>p</i> – достигнутый уровень значимости (критерий χ^2), различия достоверны при значении $p < 0,05$; **– данные представлены в виде «Mediana (Q25; Q75)»; <i>p</i> – достигнутый уровень значимости (U– критерий Манна–Уитни), различия достоверны при значении $p < 0,05$.			

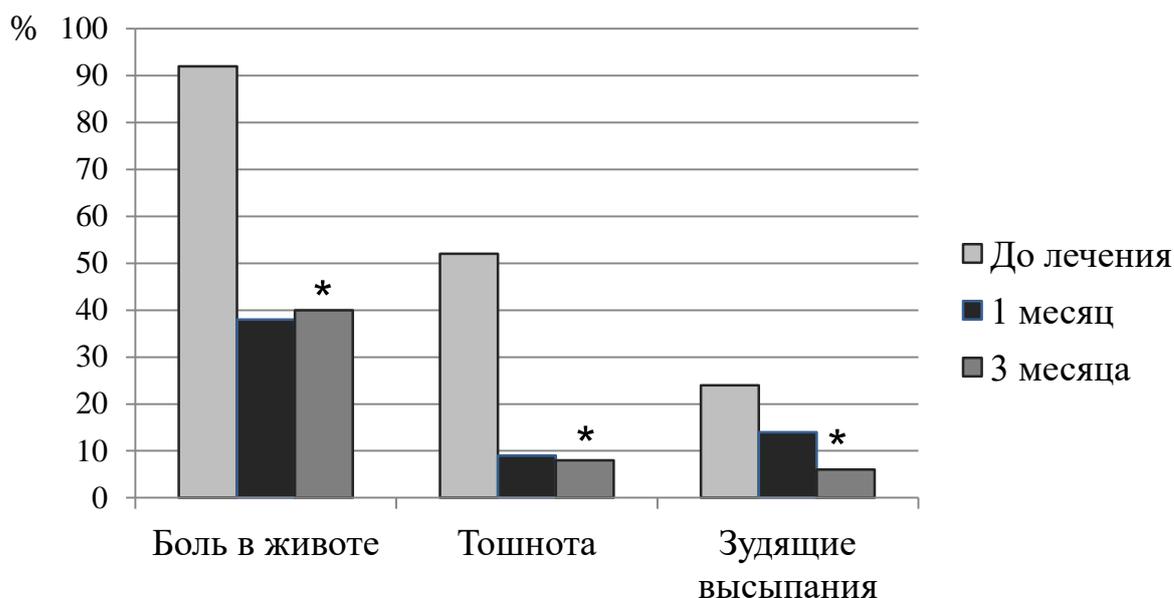
Также 43 пациентам, страдающим описторхозом, проведена эзофагогастродуоденоскопия. По результатам эндоскопического обследования у 72 % детей выявлены умеренные и у 7 % выраженные проявления экссудативно–эритематозного дуоденита. Дуоденогастральный рефлюкс с признаками рефлюкс–гастрита регистрировали у 16 % детей. Проявления рефлюкс–эзофагита выявлены у 35 % пациентов.

По данным микроскопии образцов стула у пациентов превалировала низкая интенсивность инвазии и варьировала от 4 до 3800 яиц в одном грамме стула (среднее значение $119 \pm 539,2$).

4.2 Дегельминтизация и динамическое наблюдение пациентов

Пациентам, страдающих инвазией *O. felineus* (n = 50), проведена дегельминтизация препаратом празиквантел в дозе 60 мг/кг в три приема с интервалом четыре часа. Регистрацию нежелательных явлений после приема празиквантела проводили в течение 24 часов. Динамику жалоб и симптомов, которые появлялись у пациентов после лечения, также регистрировали на визитах через одну неделю, через один и три месяца. Во время проведения дегельминтизации празиквантелом в первые три часа после приема препарата нежелательные явления отмечали только 10 % пациентов. В структуре нежелательных явлений превалировали жалобы на головокружение и головную боль (6 %), реже регистрировали у пациентов тошноту (2 %). На следующий день после приема празиквантела у 14 % детей сохранялись жалобы, в том числе на головную боль и головокружение (2 %), тошноту (4 %), снижение аппетита и боль в животе (6 %). Данные нежелательные реакции относились к категории легкой степени, купировались самостоятельно и не требовали изменения терапии.

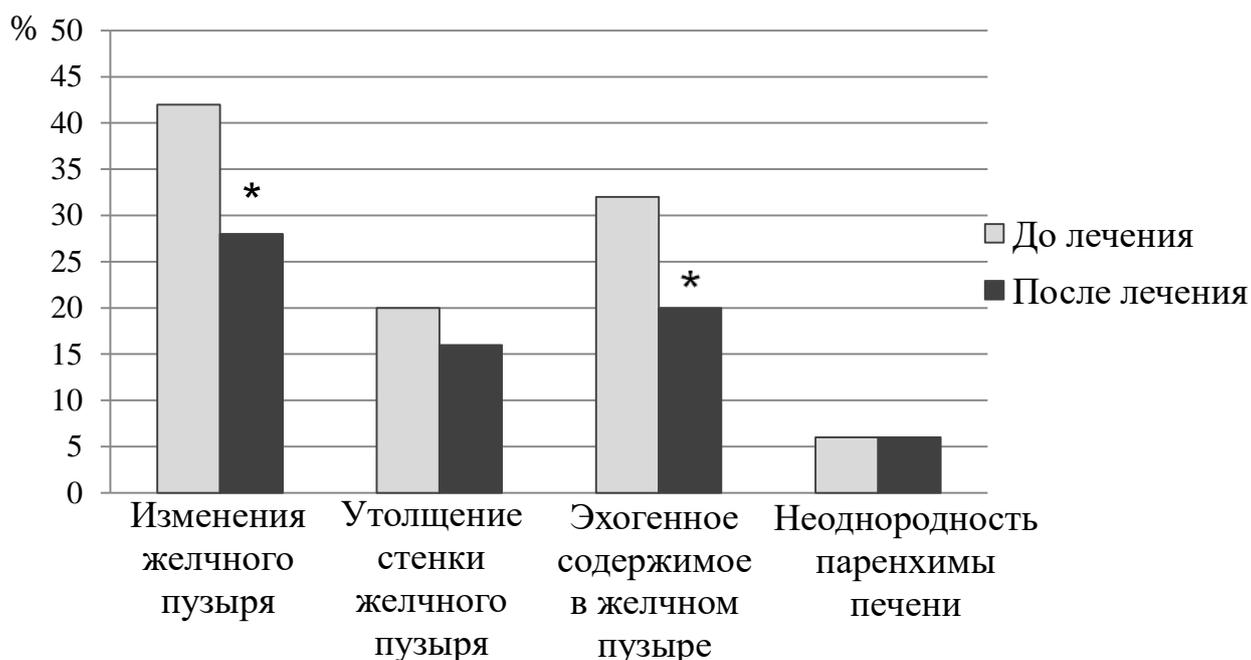
Контрольное клиническое обследование показало, что к третьему месяцу после дегельминтизации у пациентов частота болевого синдрома снизилась более чем в 2 раза в сравнении с оценкой на визите скрининга (40 % и 92 %, соответственно, $p < 0,01$). Жалобы на периодическую тошноту, в основном, после погрешности в диете, сохранялись у 8 % детей (рисунок 5).



* – $p < 0,05$ при сравнении показателей до и после лечения (критерий Уилкоксона).

Рисунок 5 – Динамика клинических симптомов у пациентов до и после дегельминтизации

Всем пациентам через три месяца после антигельминтного лечения выполнено УЗИ печени и желчевыводящей системы. Как видно на диаграммах в соответствии с рисунком 6 после терапии у детей выявлено значимое снижение признаков патологических изменений желчного пузыря в сравнении с исходными результатами (28 % и 42 %, соответственно, $p = 0,03$). Положительная динамика ультразвукографической характеристики связана, в основном, с изменением содержимого желчного пузыря. Так, у пациентов через три месяца в полтора раза реже регистрировали наличие эхогенного содержимого в желчном пузыре в сравнении с результатами до лечения (20 % и 32 %, соответственно, $p = 0,02$). Со стороны таких изменений, как наличие утолщения стенок желчного пузыря и неоднородность структуры паренхимы печени, мы не выявили выраженной динамики по результатам УЗИ за указанный период.



* – $p < 0,05$ при сравнении показателей до и после лечения (критерий Уилкоксона).

Рисунок 6 – Динамика показателей ультразвукового исследования у пациентов до и через три месяца после дегельминтизации

На пятом (через один месяц) и шестом (через три месяца) визитах проводили сбор образцов стула для контрольного паразитологического исследования, а также для выделения бактериальной ДНК на шестом визите. Через один месяц после антигельминтного лечения по результатам контрольной копроовоскопии инвазия *O. felineus* обнаружена лишь у 8 % пациентов (среднее значение $6 \pm 6,8$ яиц в грамме стула). Через три месяца все пациенты имели отрицательный результат двукратной микроскопии стула.

Клинический случай: пациент с инвазией *O. felineus*

Девочка К., 12 лет, находилась на обследовании и лечении в гастроэнтерологическом отделении ОГБУЗ «Областная детская больница», г. Томск с 20.09.2017 г. по 02.10.2017 г.

Основной диагноз: Хронический описторхоз, клинически выраженная форма, период обострения.

Сопутствующий диагноз: Хронический гастродуоденит (поверхностный катаральный антрум–гастрит, дуоденит, папиллит). ДЖВП с дисхолией. Нарушение осанки.

Жалобы при поступлении: на боль и чувство тяжести в правом подреберье при физической нагрузке или при погрешности в диете, боль в эпигастральной области до и через один час после приема пищи, редко тошнота.

Анамнез жизни: Ребенок от первой беременности, протекавшей физиологично. Роды в срок 40 недель. Масса тела при рождении 3040 г., рост 50 см. Грудное вскармливание до 8 месяцев. Введение прикорма в возрасте пяти месяцев в виде овощного пюре. Вакцинацию проводили в соответствии с национальным календарем. Перенесенные заболевания: ветряная оспа в 2015 г. ОРЗ 2–3 раза в год. Травм, операций не было. Аллергологический анамнез не отягощен. Наследственный анамнез: у мамы – гипертоническая болезнь. Социально– бытовые условия: ребенок постоянно проживает в Верхнекетском районе Томской области. Семья живет в частном неблагоустроенном доме. В семье четыре человека: двое взрослых, двое детей (12 лет и 3 года). В доме находятся кошка и собака.

Эпидемиологический анамнез: употребляет в пищу речную рыбу, в том числе рыбу семейства карповых (карась, елец, язь), примерно 1–2 раза в неделю. Обычно речную рыбу употребляют в жареном или копченом виде, реже готовят уху или рыбные котлеты. Рыбной ловлей занимается отец, чаще весной и летом. Также приобретают речную рыбу у односельчан. Со слов ребенка, отдельную посуду для разделывания и приготовления рыбы не используют.

Анамнез заболевания: жалобы на боль в животе беспокоят в течение года. Боли в животе проходили самостоятельно или после приема дротаверина. В июле 2017 г. проведено обследование. По данным эзофагогастродуоденоскопии выявлен поверхностный катаральный антрум–гастрит, дуоденит, папиллит. По данным УЗИ – перегиб желчного пузыря, дисхолия, признаки хронического холецистита вне обострения. После обследования назначены антациды, панкреатические ферменты, Однако, на фоне терапии положительного эффекта не

отмечали. В плановом порядке ребенок направлен на госпитализацию для дополнительного обследования и лечения в ОГБУЗ «Областная детская больница».

Объективный осмотр (Визит 0, включение в исследование). Антропометрические данные: рост – 147 см, вес – 36,6 кг, ИМТ – 16,9. Температура тела – 36,4 градусов. Состояние удовлетворительное. Самочувствие не нарушено. Сознание ясное. Телосложение нормостеническое. Кожные покровы физиологичной окраски, умеренной влажности, на лице единичные высыпания по типу акне. Подкожно-жировая клетчатка развита умеренно, распределена равномерно. Отеков нет. Лимфатические узлы: поднижнечелюстные, задние и передние шейные лимфоузлы размером 0,5 x 0,5 см, безболезненные, эластичные, не спаяны с окружающими тканями. Осмотр ротовой полости: слизистая розовая, язык обложен белым налетом. Зубы санированы. Зев: миндалины увеличены до II степени, гиперемии, налетов нет. Дыхательная система: носовое дыхание свободное, отделяемого нет. Грудная клетка цилиндрической формы, обе половины симметрично участвуют в акте дыхания, эластичность сохранена, болевых точек нет. Перкуторный звук над симметричными участками легких легочный. Дыхание везикулярное, хрипов нет. Частота дыхания 18 в мин. Сердечно–сосудистая система: границы сердца в пределах возрастной нормы. Верхушечный толчок в V межреберье кнутри от срединно–ключичной линии, локализованный, не усилен. Тоны сердца громкие, ритмичные, шумов нет. Артериальное давление 105/74 мм.рт.ст. Пульс 82 в мин. Живот обычной формы, в акте дыхания участвует равномерно. При пальпации живот мягкий, болезненный в эпигастрии, пилородуоденальной области. Пальпация печени: не выступает из–под края реберной дуги, край печени эластичный, ровный, безболезненный. Размеры печени по Курлову: 9 x 7 x 6 см. Пузырные симптомы: положительный симптом Кера. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Мочеиспускание не нарушено. Стул ежедневный, оформленный, без патологических примесей.

Параклиническое обследование

Общеклинический анализ крови: лейкоциты $6,1 \times 10^9/\text{л}$; гемоглобин 131 г/л; эритроциты $4,52 \times 10^{12}/\text{л}$; гематокрит 39,2 %; тромбоциты $364 \times 10^9/\text{л}$; нейтрофилы п/я 1 %, нейтрофилы с/я 51 %; моноциты 6 %; лимфоциты 35 %; эозинофилы 7 %, базофилы 0 %, СОЭ 7 мм/ч.

Биохимический анализ крови: общий белок 73 г/л, билирубин общий 16,7 мкмоль/л, 4,1 мкмоль/л, АЛАТ 10 Е/л, АСАТ 17 Е/л, ГГТ 23 Е/л, щелочная фосфатаза 414 Е/л, глюкоза 4,5 ммоль/л, С–реактивный белок 3,9 мг/л.

Общий анализ мочи: цвет светло–желтый, прозрачная, рН 6, удельный вес 1015, белок, глюкоза, билирубин и кетоны отрицательно. Эритроциты единичные в поле зрения, лейкоциты 1–2 в поле зрения.

Анализ кала на яйца гельминтов и простейших: первый анализ – не обнаружены; второй анализ (метод седиментации с применением концентраторов «PARASEP») – обнаружены яйца *O. felineus*, 12 яиц/грамм, третий анализ (метод седиментации с применением концентраторов «PARASEP») – обнаружены яйца *O. felineus*, 4 яйца/грамм.

Дуоденальное зондирование: порция А1 – золотисто–желтого цвета, прозрачная, лейкоциты 1 в поле зрения, эпителий плоский 0–1 в поле зрения. Порция В – темно–оливковая, прозрачная, эпителий цилиндрический 0–1 в поле зрения, слизь +, яйца *O. felineus* 1–2 в поле зрения. Порция С – янтарно–желтая, прозрачная, лейкоциты 0–1 в поле зрения, эпителий цилиндрический 0–1 в поле зрения, слизь +, яйца *O. felineus* 1–1 в поле зрения.

Ультразвуковое исследование внутренних органов

Печень: не увеличена, контуры ровные, край острый. Косой вертикальный размер 117 мм, краниокаудальный размер 81 мм, переднезадний размер левой доли 46 мм. Структура паренхимы неоднородная, обычной эхогенности. Воротная вена 7 мм. Холедох 3 мм. Желчные протоки не расширены, сосудистый рисунок не изменен. Желчный пузырь: размер 70 x 24 мм, контуры четкие, стенка утолщена до 1,8 мм, содержимое неоднородное, взвесь. В полости желчного пузыря конкрементов нет. Поджелудочная железа: головка 14 мм, тело 10 мм, хвост 12 мм. Контуры четкие, ткань обычной эхогенности, структура однородная.

Селезенка: размеры 110 x 55 мм, структура паренхимы не изменена. Почки: овальной формы, расположены типично, контуры четкие, ровные, подвижность сохранена. Размер: левая 100 x 47 мм, правая 96 x 41 мм. Чашечно–лоханочная система не расширена. Заключение: Диффузные изменения печени. Признаки хронического холецистита, холангита.

За время госпитализации получала лечение: карсил по 1 драже 3 раза в день, эзомепразол 20 мг 2 раза в день. Дегельминтизация: празиквантел 60 мг/кг (2100 мг) в три приема через 4 часа (18:00, 22:00, 02:00). Эссенциале 5 мл в 200 мл 5 % раствора глюкозы внутривенно капельно однократно.

Визит 1 – день дегельминтизации

Жалобы: на момент осмотра нет.

Объективный осмотр: Температура 36,6 градусов. Состояние удовлетворительное. Самочувствие не нарушено. Сознание ясное. Кожные покровы физиологичной окраски, умеренной влажности, высыпаний нет. Осмотр ротовой полости: слизистая розовая, язык обложен белым налетом. Зев: миндалины увеличены до II степени, гиперемии, налетов нет. Дыхательная система: носовое дыхание свободное, отделяемого нет. Перкуторный звук над симметричными участками легких легочный. Дыхание везикулярное, хрипов нет. Частота дыхания 19 в мин. Сердечно–сосудистая система: границы сердца в пределах возрастной нормы. Тоны сердца громкие, ритмичные, шумов нет. Артериальное давление 108/76 мм.рт.ст. Пульс 86 в мин. Пищеварительная система: живот обычной формы, в акте дыхания участвует равномерно. При пальпации живот мягкий, безболезненный. Пальпация печени: не увеличена, по краю реберной дуги, край печени эластичный, ровный, безболезненный. Пузырные симптомы: отрицательные. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Мочеиспускание не нарушено. Стул ежедневный, оформленный.

Визит 2 – через 12 – 24 часов после приема празиквантела

Прием препарата празиквантел в дозе 60 мг/кг пациентка перенесла удовлетворительно. Через один час после приема первой дозы празиквантела (20

мг/кг) отмечала легкое головокружение, чувство сонливости. Данные явления купировались самостоятельно через 45 мин. Рвоты, тошноты, нарушения стула после приема препарата не зарегистрировано.

Жалобы: снижение аппетита.

Объективный осмотр: Температура 36,5 градусов. Артериальное давление 102/73 мм.рт.ст. Пульс 80 в мин. Частота дыхания 18 в мин.

Состояние удовлетворительное. Самочувствие не нарушено. Сознание ясное.

Кожные покровы обычной окраски, умеренной влажности, сыпи нет. Осмотр ротовой полости: слизистая розовая, язык обложен белым налетом. Зев: миндалины увеличены до II степени, гиперемии, налетов нет. Со стороны дыхательной и сердечно–сосудистой систем статус прежний. Пищеварительная система: живот обычной формы, в акте дыхания участвует равномерно. При пальпации живот мягкий, безболезненный. Пальпация печени: не увеличена. Пузырные симптомы: отрицательные. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Мочеиспускание не нарушено. Стул 1 раз в день, оформленный.

Визит 3 – через одну неделю после лечения, телефонный контакт

Жалоб нет. Самочувствие хорошее. Рвоты, тошноты, нарушения стула с момента визита 2 не зарегистрировано.

Визит 4 – через один месяц после лечения

Жалоб на момент осмотра нет. В течение месяца после дегельминтизации отмечала тошноту при погрешности в диете (после употребления жирной или жареной пищи). Рвоты, нарушения стула с момента визита 3 не зарегистрировано. Контрольная копроовоскопия– яйца *O. felineus* не обнаружены.

Визит 5 – через три месяца после лечения

Жалоб на момент осмотра нет. Отмечает улучшение состояния: боли в животе не беспокоили, аппетит улучшился. Рвоты, тошноты, нарушения стула с момента визита 4 не зарегистрировано.

Объективный осмотр: Антропометрические показатели: рост – 148 см, вес – 37,0 кг, ИМТ – 16,9. Температура 36,4 градусов. Артериальное давление 110/77

мм.рт.ст. Пульс 84 в мин. Частота дыхания 18 в мин. Состояние удовлетворительное. Самочувствие хорошее. Сознание ясное. Кожные покровы физиологичной окраски, умеренной влажности, чистые. Подкожно– жировая клетчатка развита умеренно, распределена равномерно. Отеков нет. Лимфатические узлы: не увеличены. Осмотр ротовой полости: слизистая розовая, язык чистый. Зубы санированы. Зев: миндалины увеличены до II степени, гиперемии, налетов нет. Со стороны дыхательной и сердечно– сосудистой систем статус без изменений. Пищеварительная система: живот обычной формы, в акте дыхания участвует равномерно. При пальпации живот мягкий, безболезненный. Пальпация печени: не выступает из– под края реберной дуги, край печени эластичный, ровный, безболезненный. Размеры печени по Курлову: 9x7x6 см. Пузырные симптомы: отрицательные. Селезенка не пальпируется. Симптом поколачивания отрицательный с обеих сторон. Мочеиспускание не нарушено. Стул ежедневный, оформленный, без патологических примесей.

Контрольная копроовоскопия двукратно – яйца *O. felineus* не обнаружены.

Ультразвуковое исследование внутренних органов

Печень: не увеличена, контуры ровные, край острый. Косой вертикальный размер 119 мм, краниокаудальный размер 79 мм, переднезадний размер левой доли 48 мм. Ткань печени обычной эхогенности, структура неоднородная. Воротная вена 8 мм. Холедох 2,8 мм. Желчные протоки не расширены, контуры ровные. Желчный пузырь: размер 71 x 21 мм, контуры четкие, стенка не утолщена, содержимое однородное, конкрементов нет.

Поджелудочная железа: головка 14 мм, тело 13 мм, хвост 12 мм. Контуры четкие, ровные, ткань обычной эхогенности, структура однородная. Вирсунгов проток не расширен. Селезенка: размеры 108x57 мм, структура паренхимы не изменена. Заключение: Диффузные изменения печени. Признаки хронического холангита.

Таким образом, в соответствии с результатами клинико– фармакологического исследования выявлено, что дегельминтизация празиквантелом в дозе 60 мг/кг имеет–достаточно высокий профиль безопасности

у пациентов детского возраста, с низкой частотой нежелательных реакций – только 14 % детей предъявляли жалобы в первые сутки после приема препарата, среди которых головная боль, слабость, снижение аппетита, тошнота и боль в животе. Все нежелательные явления относились к категории легких.

Динамическое наблюдение детей после антигельминтного лечения показало, что клиническое улучшение регистрируется через 3 месяца и выражается снижением частоты болей в животе (92 % против 40 %, $p < 0,01$), тошноты (52 % против 8 %, $p < 0,01$), зудящих высыпаний (24 % против 6 %, $p < 0,01$).

По данным УЗИ после дегельминтизации через три месяца сохраняются изменения в гепатобилиарной системе в виде утолщения стенки желчного пузыря и неоднородности структуры паренхимы печени. Однако, у пациентов уже через три месяца значимо реже регистрировали наличие эхогенного содержимого в желчном пузыре (20 % и 32 %, соответственно, $p = 0,02$).

Через один месяц после антигельминтного лечения положительные результаты паразитологического исследования отмечали у 8 % пациентов (среднее значение $6 \pm 6,8$ яиц *O. felineus* в грамме стула), через три месяца – дегельминтизация показала 100 % эффективность у детей, что связано с низкой интенсивностью инвазии.

5 РЕЗУЛЬТАТЫ МЕТАГЕНОМНОГО АНАЛИЗА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ДЕТЕЙ

Выделение бактериальной ДНК из образцов стула выполняли на базе Центральной научно–исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий д–р мед наук, профессор Е.В. Удут), метагеномный анализ проведен на базе лаборатории института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН и ООО «Кномикс» (г. Москва).

Для анализа состава микробиоты кишечника сформированы следующие группы: 1 – дети, не страдающие инвазией *O. felineus* (n = 50), 2 – дети с инвазией *O. felineus* до антигельминтного лечения (n = 50) и группа 3 – пациенты через три месяца после дегельминтизации празиквантелом (n = 48).

В рамках исследования выполнено секвенирование бактериальных генов 16S рРНК 148 образцов микробиоты кишечника и 5 образцов технического контроля. В результате секвенирования получено 3736220 прочтений, из которых после фильтрации по качеству, удаления химерных последовательностей и контаминантов в анализ включено 3549659 ридов. В качестве бактерий-контаминантов, составляющих подавляющую часть представленности в технических контрольных образцах, идентифицированы *Staphylococcus sciuri* и строгие аэробы *Acinetobacter guillouiae*. Из анализа исключен один образец из группы сравнения, имевший менее 5000 прочтений. Медиана представленности прочтений на образец составила 21576 [16621; 25594].

5.1 Оценка таксономического разнообразия микробиоты кишечника

Одним из важнейших параметров оценки состояния микробиоты является α -разнообразие – мера таксономического богатства сообществ.

В результате оценки α -разнообразия по индексам таксономического разнообразия Фэйта и Шеннона выявлена тенденция к увеличению таксономического богатства у пациентов с инвазией *O. felineus* по сравнению с

неинвазированными участниками, однако данные различия не были значимы (индекс Фэйта: $p = 0,73$; индекс Шеннона: $p = 0,44$, рисунок 7).

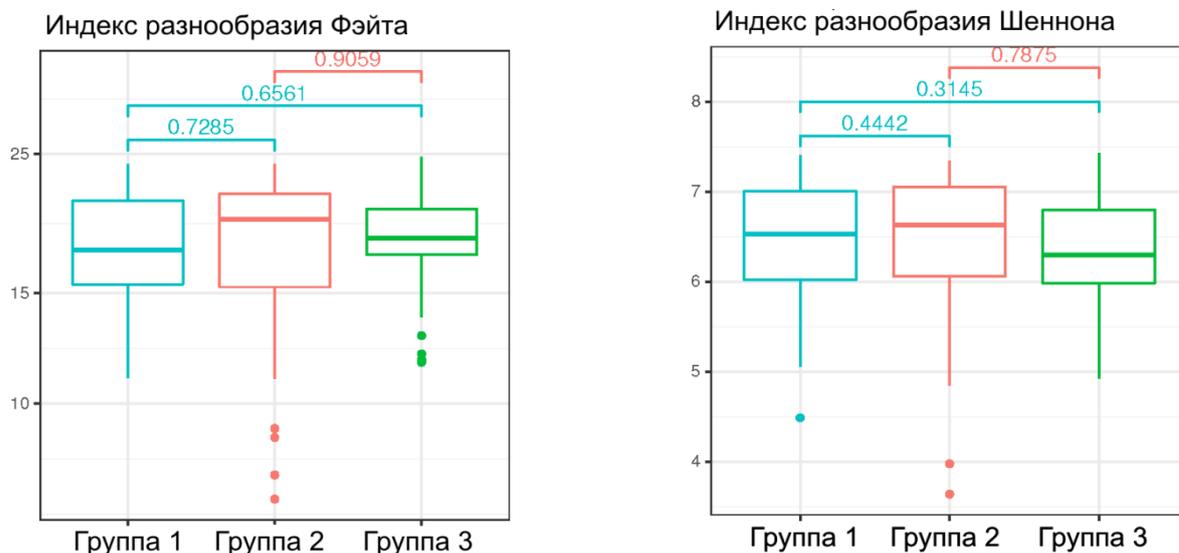


Рисунок 7 – Различия в таксономическом разнообразии микробиоты кишечника между исследуемыми группами

Примечание – на рисунке графики представляют индексы разнообразия Фэйта и Шеннона. Группа 1 – дети, не страдающие инвазией *O.felineus*, Группа 2 – дети с инвазией *O.felineus*, Группа 3 – пациенты после дегельминтизации. Чертой внутри прямоугольников на графике обозначены медианы значений, границы – первый и третий квартили, точками обозначены выбросы.

Ассоциации между количеством разновидностей операционных таксономических единиц (ОТЕ), характеризующимся индексом observed OTUs, и статусом пациентов также не были обнаружены ($p = 0,76$). Состав кишечной микробиоты пациентов после лечения характеризовался таким же таксономическим разнообразием, как и до дегельминтизации и у детей контрольной группы.

В нашем исследовании мы не обнаружили изменения α -разнообразия микробиоты в сравнении с группой сравнения, вероятно, из-за низкой интенсивности инвазии у исследуемых пациентов. Однако, у пациентов с описторхозом по результатам оценки трех индексов разнообразия (Фэйта, Шеннона и observed OTUs) выявлена положительная ассоциация между

интенсивностью инвазии, выраженной количеством яиц на один грамм стула, и α -разнообразием (рисунок 8).

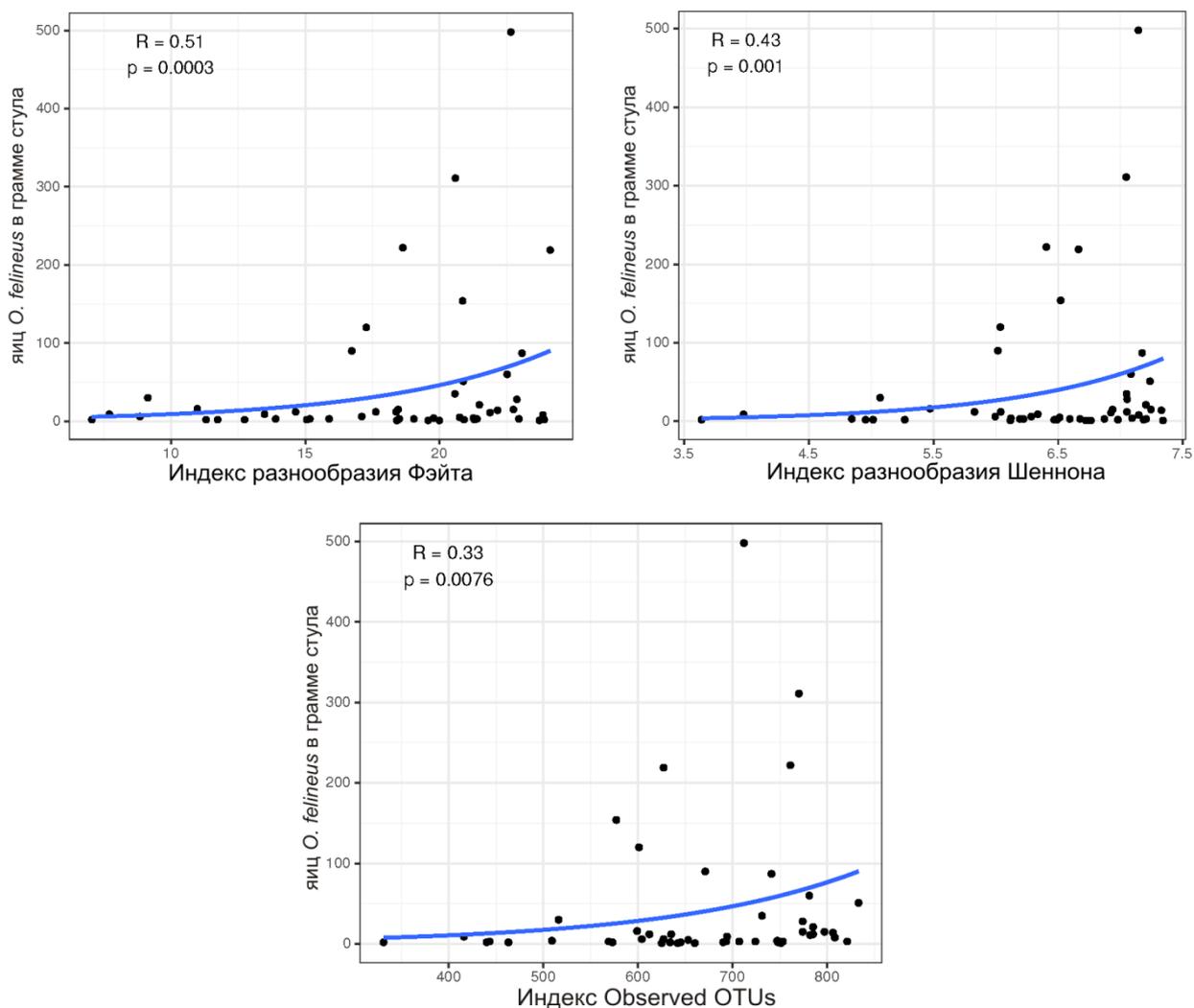


Рисунок 8 – Различия в таксономическом разнообразии микробиоты кишечника в зависимости от интенсивности инвазии *O. felineus*

Примечание – на рисунке графики представляют ассоциации между интенсивностью инвазии, измеренной как количество яиц *O. felineus* на один грамм фекалий, и индексами Фэйта, Шеннона и числом наблюдаемых OTU для инвазированных детей.

В ходе исследования проведена оценка β -разнообразия микробиоты – меры попарных различий микробиотических сообществ между исследуемыми образцами. Влияние клинических факторов, включая жалобы, результаты биохимического анализа, результаты физикального и ультразвукового

исследования, наличия инвазии *O. felineus* на совокупный состав микробиома пациентов оценивали с использованием непараметрического дисперсионного анализа. При оценке вклада статуса пациента в β -разнообразии микробиоты выявлены различия между составом метагенома у детей с инвазией *O. felineus* и группы детей, не страдающих инвазией ($R^2 = 0,05$; $p = 0,01$), а также между неинвазированными участниками и пациентами после лечения ($R^2 = 0,07$; $p < 0,01$). (рисунок 9). Не выявлено значимых различий по β -разнообразию между образцами, полученными до и после дегельминтизации ($R^2 = 0,02$; $p = 0,18$). При оценке влияния других факторов на совокупный состав микробиома пациентов установлено, что вносят значимый вклад в попарные расстояния между микробиомами возраст ($R^2 = 0,04$; $p = 0,02$) и наличие зудящих высыпаний ($R^2 = 0,03$; $p = 0,03$).

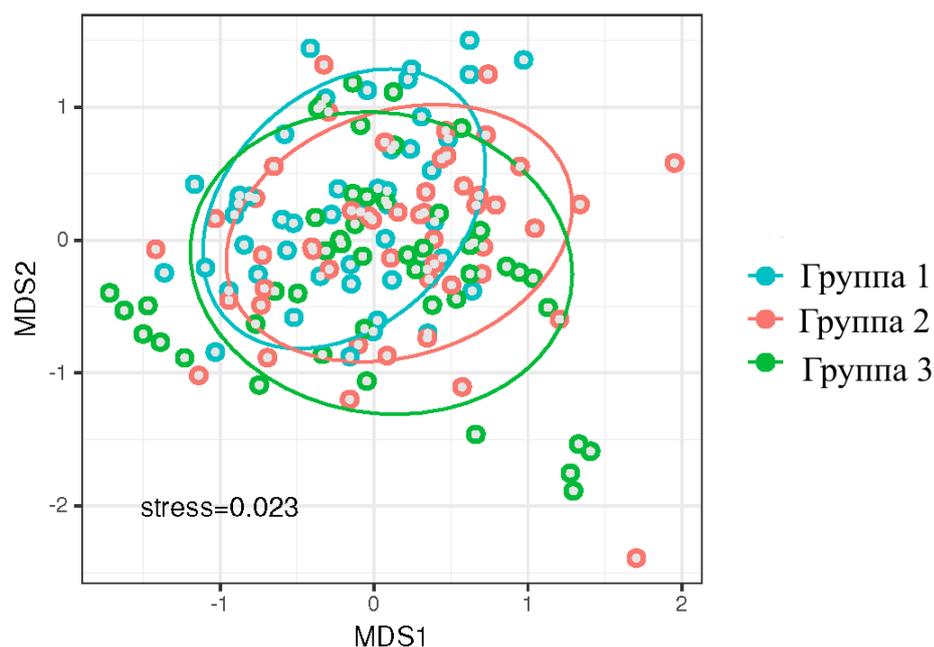


Рисунок 9 – График многомерного неметрического шкалирования микробиоты кишечника исследуемых групп

Примечание – на графике каждая точка представляет образец: Группа 1 – дети, не страдающие инвазией *O.felineus*, Группа 2 – дети с инвазией *O.felineus*, Группа 3 – пациенты после дегельминтизации. Голубой линией обозначены границы Группы 1, красной линией обозначены границы Группы 2, зеленой линией – границы Группы 3.

5.2 Состав микробиоты кишечника на разных таксономических уровнях

Для детальной оценки состава микробиоты кишечника определены таксоны, которые встречаются более чем в 10 % образцов и составляют не менее 0,01 % от состава микробиома в каждом образце. Данные таксоны приведены в соответствующих диаграммах таксономического состава. Столбцы в диаграмме соответствуют образцам (кластеризованы по сходству состава микробиоты), а строки – бактериальным таксонам в порядке убывания суммарного процента представленности по всей выборке сверху вниз.

Наиболее представленными типами в микробиоте кишечника группы детей, не страдающих инвазией *O. felinus*, были Firmicutes ($75,2 \pm 13,8$ %, здесь и далее данные представлены в виде $M \pm m$ – среднее значение \pm стандартное отклонение), Actinobacteria ($15,5 \pm 13,3$ %), Bacteroidetes ($6,3 \pm 7,6$ %) и Proteobacteria ($1,8 \pm 2,9$ %) от состава метагенома данной группы (рисунок 10). У пациентов с инвазией *O. felinus* на уровне типов также преобладали Firmicutes ($65,7 \pm 17,2$ %), Actinobacteria ($13,4 \pm 12,7$ %), Bacteroidetes ($11,7 \pm 12,5$ %) и Proteobacteria ($7,5 \pm 13,7$ %). После антигельминтной терапии празиквантелом наиболее представленными типами в микробиоме были Firmicutes ($74,4 \pm 9,9$ %), Actinobacteria ($11 \pm 9,2$ %), Bacteroidetes ($10,4 \pm 11,1$ %) и Proteobacteria ($1,9 \pm 2$ %). Менее представленными типами во всех образцах были Verrucomicrobia, Tenericutes, Euryarchaeota, Cyanobacteria, Synergistetes. В среднем, соотношение Firmicutes/ Bacteroidetes у детей составило 7,5.

Как видно на рисунке 10 четыре образца стула от пациентов с инвазией *O. felinus* отличаются высокой долей представленности типа Proteobacteria преимущественно за счет семейства Enterobacteriaceae. В одном образце стула представленность Proteobacteria достигала 68 % от состава метагенома, в остальных трех образцах содержание данного типа составило около 40 %. Примечательно, что по данным анамнеза у данных детей зарегистрирована длительность инвазии в течение пяти и более лет.

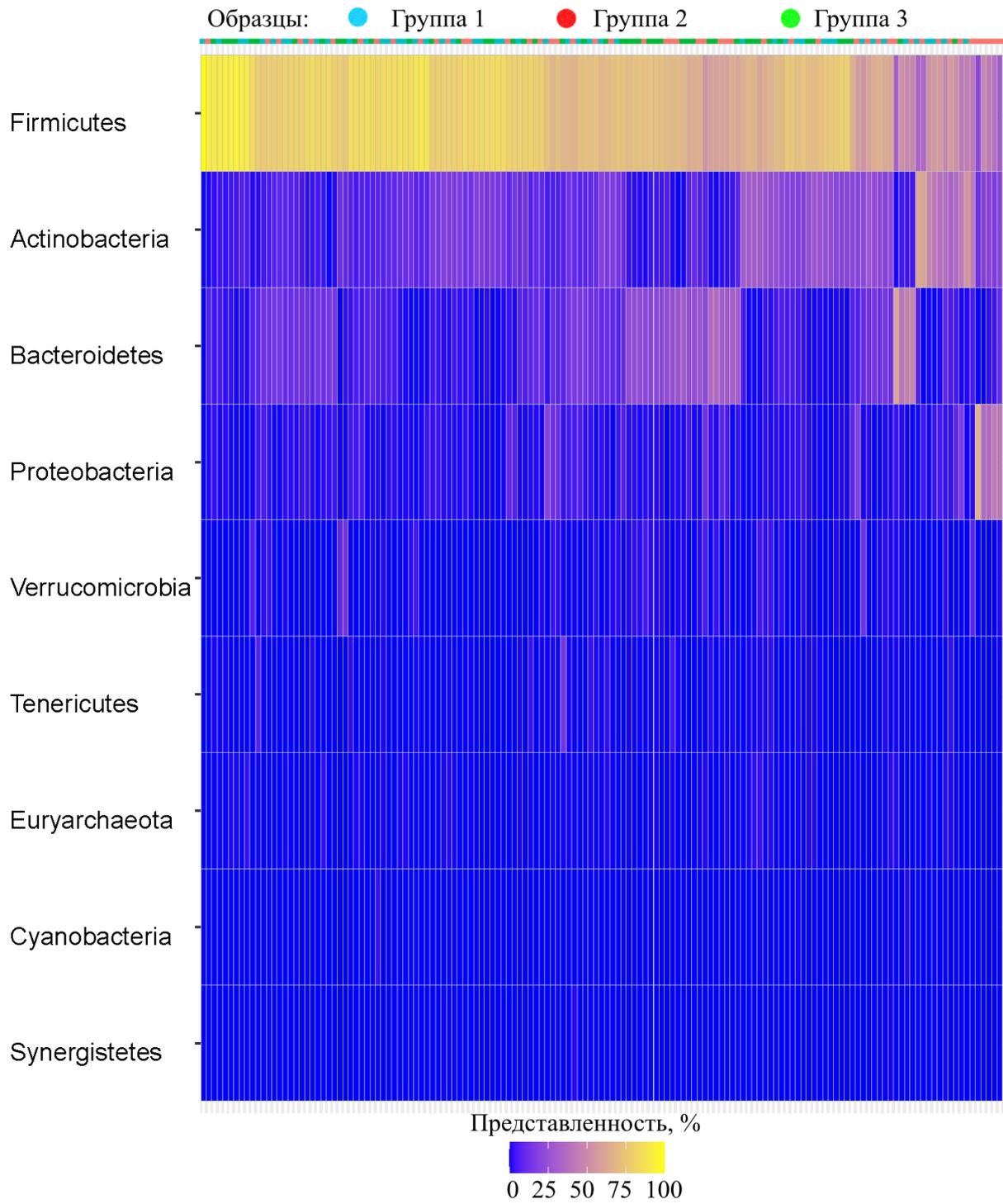


Рисунок 10 – Тепловая карта представленности типов микроорганизмов в составе микробиоты кишечника

На уровне классов в образцах микробиоты кишечника детей, не страдающих инвазией *O. felineus*, преобладали Clostridia (64,4 ± 15,5 %), Actinobacteria (12,4 ± 13 %), Bacteroidia (6,3 ± 7,6 %), Bacilli (4 ± 10,9 %), Erysipelotrichia (4 ± 3,9 %) и Coriobacteriia (3,1 ± 2 %). Всего в образцах микробиоты идентифицировано 15 классов бактерий, имеющих представленность более 0,01 % от состава. В образцах микробиоты пациентов, страдающих описторхозом, наиболее представлены классы Clostridia (57,2 ± 17,8 %), Actinobacteria (11,6 ± 12,4 %), Bacteroidia (11,7 ± 12,5 %), Gammaproteobacteria (7,3 ± 13,6 %), Bacilli (3,2 ± 4,8 %) и Erysipelotrichia (3,6 ± 5,1 %). У пациентов после дегельминтизации преобладали классы Clostridia (67 ± 9,7 %), Bacteroidia (10,4 ± 11,1 %), Actinobacteria (9,3 ± 8,7 %), Bacilli (3,1 ± 3,8 %) и Erysipelotrichi (3 ± 2,4 %). Менее представленными в составе метагенома образцов были классы Verrucomicrobiae (0,9 ± 2 %), Mollicutes (0,4 ± 1,3 %), Methanobacteria (0,3 ± 0,5 %), Negativicutes (2,1 ± 4,6 %, рисунок 11).

На уровне отрядов в составе кишечной микробиоты у детей без инвазии наиболее распространены Clostridiales (64,4 ± 14,6 %), Bifidobacteriales (12,3 ± 13 %), Bacteroidales (6,3 ± 7,5 %), Erysipelotrichales (4 ± 3,7 %) и Lactobacillales (3,5 ± 10,8 %). У пациентов, страдающих описторхозом, в микробиоте наиболее представлены отряды Clostridiales (57,2 ± 18 %), Bacteroidales (11,7 ± 12,7 %), Bifidobacteriales (11,4 ± 12,4 %), Enterobacteriales (5,7 ± 12,7 %), Erysipelotrichales (3,6 ± 3,5 %), Lactobacillales (3 ± 4,8 %), и после дегельминтизации – Clostridiales (67 ± 8,8 %), Bacteroidales (10,4 ± 11,2 %), Bifidobacteriales (9,1 ± 8,7 %), Erysipelotrichales (3 ± 2,2 %), Lactobacillales (2,9 ± 3,8 %).

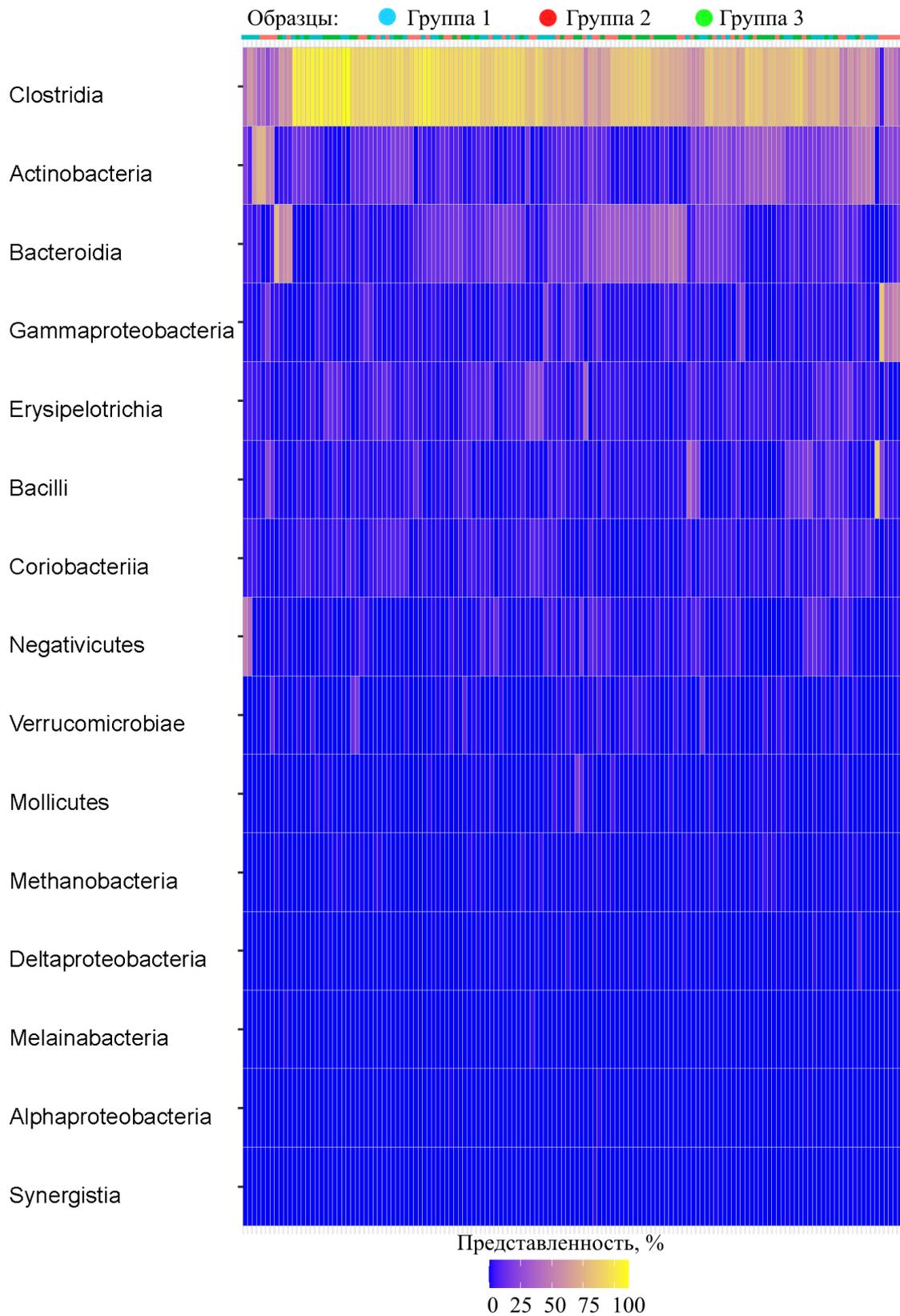


Рисунок 11 – Тепловая карта представленности классов микроорганизмов в составе микробиоты кишечника

На уровне семейств в микробиоте кишечника во всех группах преобладали Lachnospiraceae ($35,4 \pm 17\%$), Ruminococcaceae ($21,6 \pm 12,3\%$), Bifidobacteriaceae ($11 \pm 11,2\%$), Bacteroidaceae ($4 \pm 5,8\%$), Prevotellaceae ($3,7 \pm 7\%$) от состава метагенома всех образцов. Всего идентифицировано 45 семейств с представленностью более 0,01 % от состава метагенома (рисунок 12). Данные по представленности в микробиоте преобладающих семейств микроорганизмов у пациентов исследуемых групп отражены в таблице 16.

Таблица 16 – Преобладающие семейства бактерий в составе микробиоты кишечника у детей исследуемых групп

Семейство микроорганизмов	Доля в составе микробиоты (%)*		
	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Lachnospiraceae	$40,6 \pm 16$	$30,6 \pm 15,7$	$35 \pm 18,4$
Ruminococcaceae	$17,6 \pm 10$	$21,1 \pm 12,5$	$26,2 \pm 12,5$
Bifidobacteriaceae	$12,3 \pm 13,2$	$11,4 \pm 12,5$	$9,1 \pm 9,3$
Enterobacteriaceae	$1,1 \pm 2,8$	$5,7 \pm 12,7$	$0,7 \pm 1,4$
Bacteroidaceae	$2,2 \pm 3,1$	$5 \pm 6,8$	$4,8 \pm 6,7$
Prevotellaceae	$3,2 \pm 6,8$	$4,5 \pm 6,9$	$3,4 \pm 6,5$
Erysipelotrichaceae	$4 \pm 3,7$	$3,7 \pm 3,7$	$3 \pm 2,3$
Peptostreptococcaceae	$3,1 \pm 2,6$	$2,5 \pm 3,6$	$3 \pm 2,4$
Coriobacteriaceae	$1,9 \pm 2,1$	$1,1 \pm 2,7$	$1,1 \pm 1,6$
Veillonellaceae	$3 \pm 7,4$	$1,4 \pm 2,3$	$1,1 \pm 3,3$
Streptococcaceae	$2,9 \pm 10,7$	$1,5 \pm 2,5$	$1,7 \pm 2,5$
Clostridiaceae	$1,3 \pm 1,7$	$1,3 \pm 1,3$	$1,1 \pm 1,3$
Christensenellaceae	$1,3 \pm 1,0$	$1,4 \pm 1,0$	$1,6 \pm 1,5$
Примечание –* данные представлены в виде $M \pm m$, означают среднее значение \pm стандартное отклонение.			

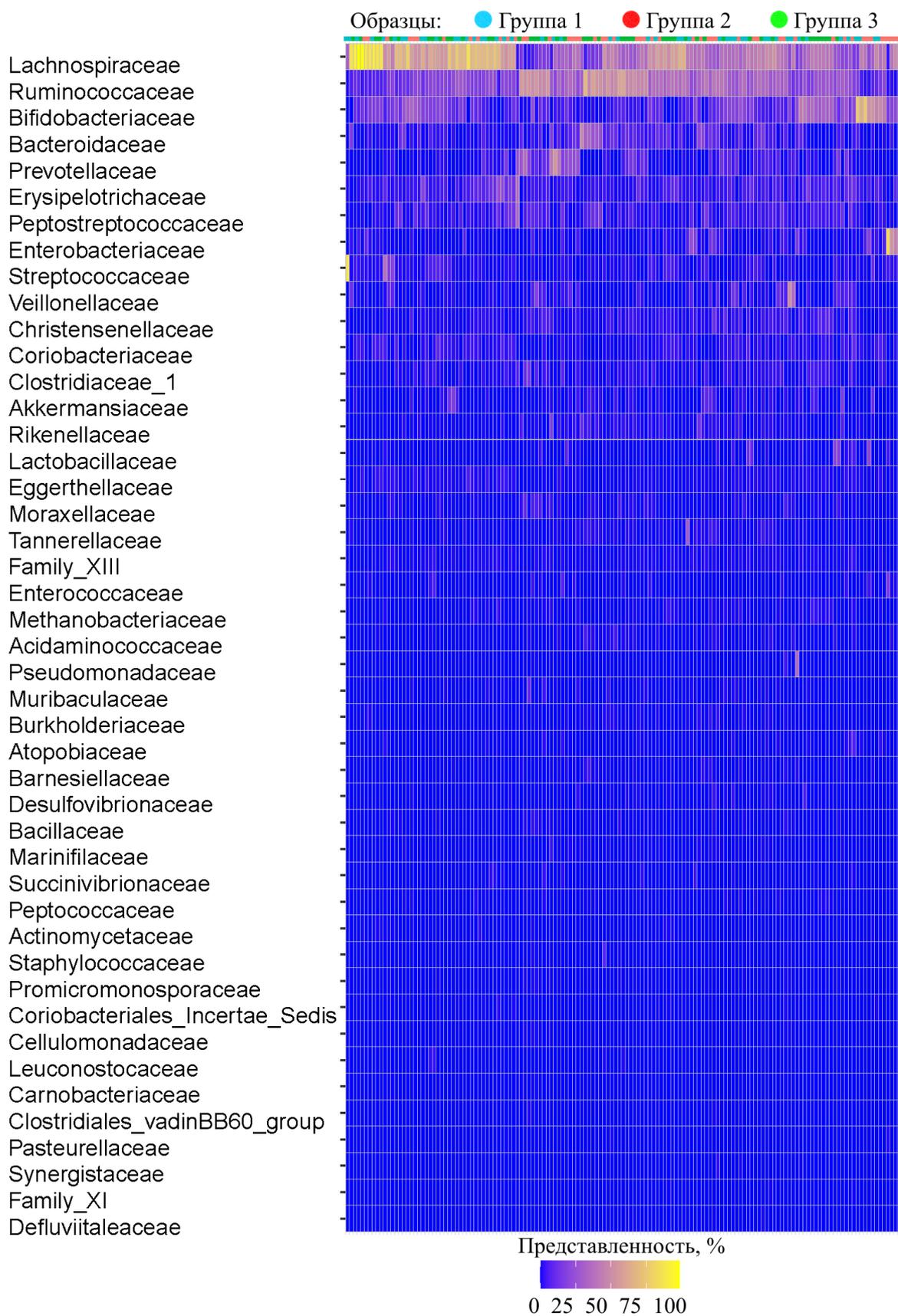


Рисунок 12 – Тепловая карта представленности семейств микроорганизмов в составе микробиоты кишечника

Среди наиболее представленных бактериальных родов в структуре идентифицированных метагеномов определены *Blautia* ($13,1 \pm 9,9$ %), *Bifidobacterium* ($11,2 \pm 11,7$ %), *Faecalibacterium* ($6,7 \pm 6,8$ %), *Bacteroides* ($4,1 \pm 5,9$ %), *Agathobacter* ($3,2 \pm 3,5$ %), *Ruminococcus* ($2,7 \pm 3,4$ %) и *Prevotella 9* ($3,1 \pm 6,3$ %), *Dorea* ($3,1 \pm 2,1$ %) и группа *Eubacterium hallii* ($2,9 \pm 2,1$ %). Всего идентифицировано 138 родов, представленность которых была выше 0,01 % (рисунок 13). Данные по наиболее представленным родам микроорганизмов в метагеноме у пациентов, страдающих инвазией *O. felineus*, до и после лечения, а также группы детей без инвазии отражены в таблице 17.

Таблица 17 – Преобладающие роды бактерий в составе микробиоты кишечника у детей исследуемых групп

Роды микроорганизмов	Доля в составе микробиоты (%)*		
	Группа 1	Группа 2	Группа 3
<i>Blautia</i>	$16,2 \pm 10,1$	$9,2 \pm 7,4$	$14,1 \pm 10,9$
<i>Bifidobacterium</i>	$12,5 \pm 13,1$	$11,6 \pm 12,5$	$9,4 \pm 9$
<i>Faecalibacterium</i>	$6,4 \pm 6,7$	$7,7 \pm 7,4$	$6 \pm 6,1$
<i>Escherichia– Shigella</i>	$1 \pm 2,9$	$5,5 \pm 12,8$	$0,6 \pm 1,3$
<i>Agathobacter</i>	$3,1 \pm 3$	$3,5 \pm 4$	$2,9 \pm 3,3$
<i>Prevotella 9</i>	$2,9 \pm 6,6$	$3,4 \pm 6$	$3,1 \pm 6,4$
<i>Dorea</i>	$3,8 \pm 2,4$	$2,7 \pm 2,2$	$2,8 \pm 1,7$
<i>Streptococcus</i>	$2,6 \pm 9,4$	$1,4 \pm 2,3$	$1,5 \pm 2,4$
<i>Bacteroides</i>	$2,2 \pm 3,2$	$5 \pm 6,7$	$4,9 \pm 6,7$
Группа <i>Eubacterium hallii</i>	$3,8 \pm 2$	$2,3 \pm 1,8$	$2,5 \pm 2$
Группа <i>Ruminococcus torques</i>	$2,1 \pm 1,7$	$2,2 \pm 3$	$2,5 \pm 2,8$
<i>Collinsella</i>	$1,9 \pm 1,6$	$1,1 \pm 1,6$	$1,1 \pm 1,2$
<i>Subdoligranulum</i>	$2,7 \pm 2,7$	$2,1 \pm 2,1$	$2,4 \pm 3,2$
<i>Catenibacterium</i>	$1,9 \pm 3,7$	$1,3 \pm 2,6$	$0,4 \pm 1,2$
Примечание –* данные представлены в виде $M \pm m$, означают среднее значение \pm стандартное отклонение.			

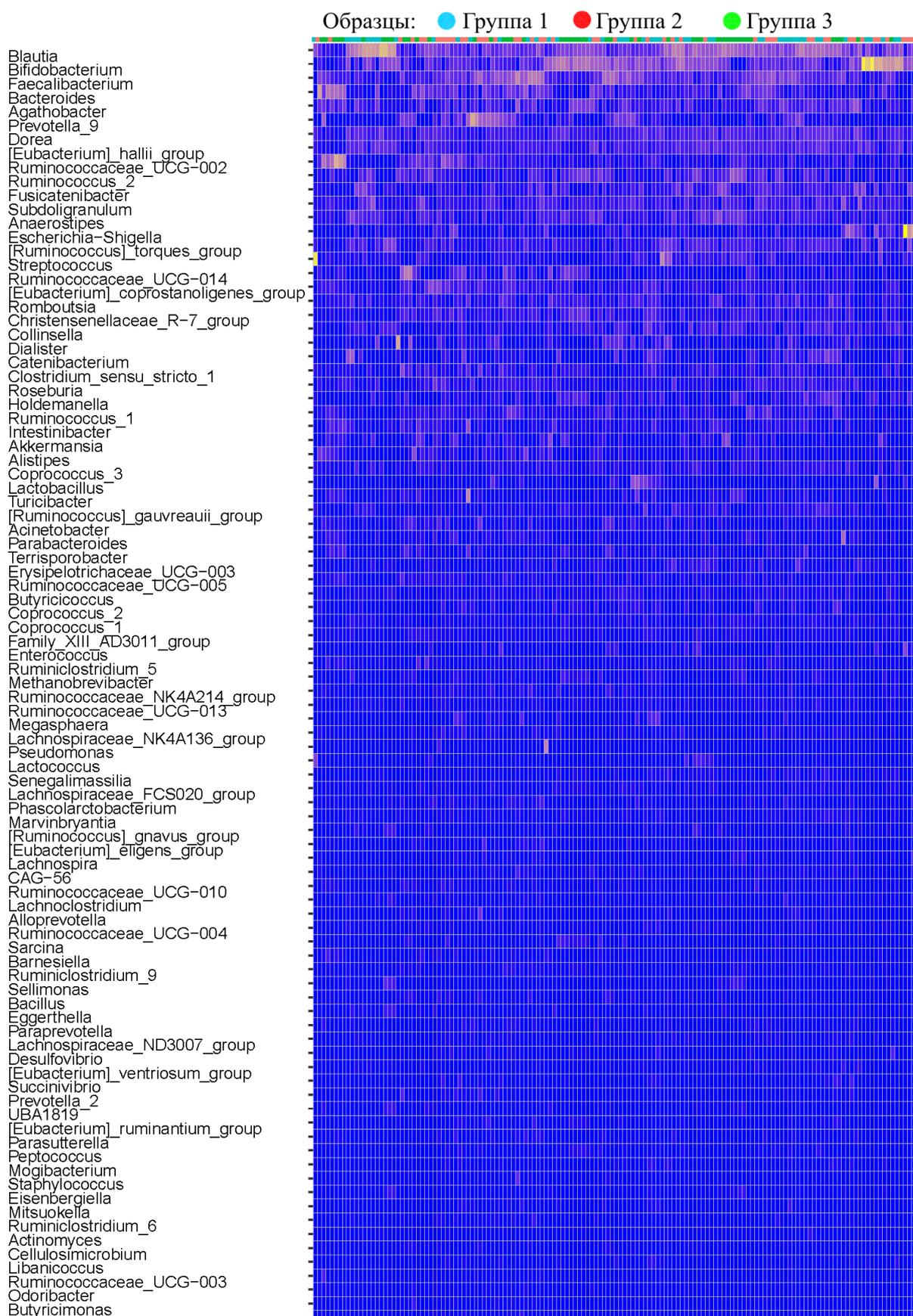


Рисунок 13 – Тепловая карта представленности родов микроорганизмов в составе микробиоты кишечника

5.3 Влияние инвазии *Opisthorchis felineus* и дегельминтизации на микробиоту кишечника

Для оценки различий в составе кишечной микробиоты между исследуемыми группами были сопоставлены представленности ОТЕ на различных таксономических уровнях — от типа до рода. Для выявления различий при одновременном сравнении представленности микроорганизмов в образцах стула трех исследуемых групп выполнен анализ с использованием обобщенной линейной смешанной модели с отрицательным биномиальным распределением.

На уровне типов в микробиоме кишечника у пациентов с инвазией *O.felineus* выявлено уменьшение представленности бактерий типа Firmicutes и увеличение содержания Proteobacteria в сравнении с участниками без инвазии (таблица 18). После дегельминтизации через 3 месяца отмечалось, наоборот, увеличение содержания Firmicutes и снижение Proteobacteria относительно их представленности у пациентов до лечения и, таким образом, были сопоставимы с уровнем в группе детей, не страдающих инвазией (рисунок 14, 15). В образцах стула после лечения выявлено снижение представленности бактерий типа Synergistetes в сравнении с группой детей, не страдающих инвазией, и пациентами до лечения (рисунок 16).

Таблица 18 – Различия в составе кишечной микробиоты на уровне типов между исследуемыми группами

Тип	Группа 1	Группа 2	Группа 3	p [#]
Proteobacteria	71,64 (14,31)	257,19 (54,49)*	96,67 (17,96)**	< 0,01
Firmicutes	3757,84 (118,74)	3287,1(102,87)*	3717,67(118,7)**	0,02
Synergistetes	0,37 (0,33)	0,59(0,51)	0,01 (0,01) ***	0,04

Примечание – данные для каждого таксона в группе представлены в виде $emmean \pm SE$; [#] различия в представленности таксонов статистически значимы при уровне $p < 0,05$ (ANOVA, значения p даны с поправкой FDR); * различия значимы при сравнении с Группой 1, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test); ** различия значимы при сравнении с Группой 2, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test); *** различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 2, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test).

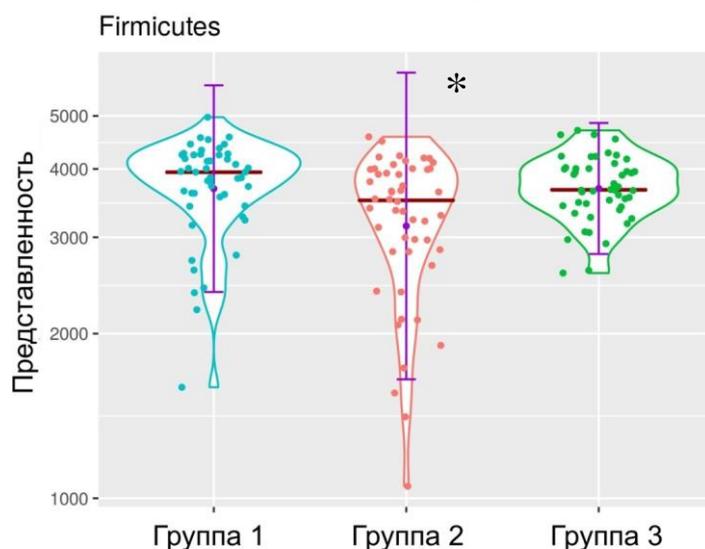


Рисунок 14 – Различия в представленности бактерий типа Firmicutes между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность типа приведена в логарифмическом виде (Log1p). * различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 3, $p < 0,05$.

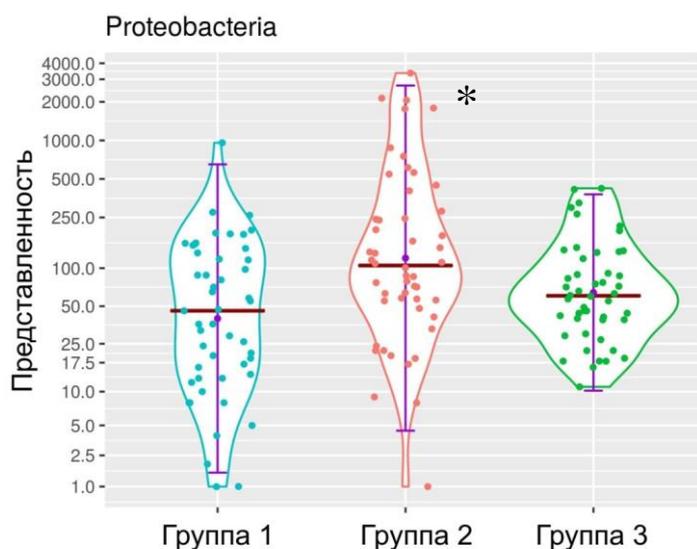


Рисунок 15 – Различия в представленности бактерий типа Proteobacteria между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность типа приведена в логарифмическом виде (Log1p). * различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 3, $p < 0,05$.

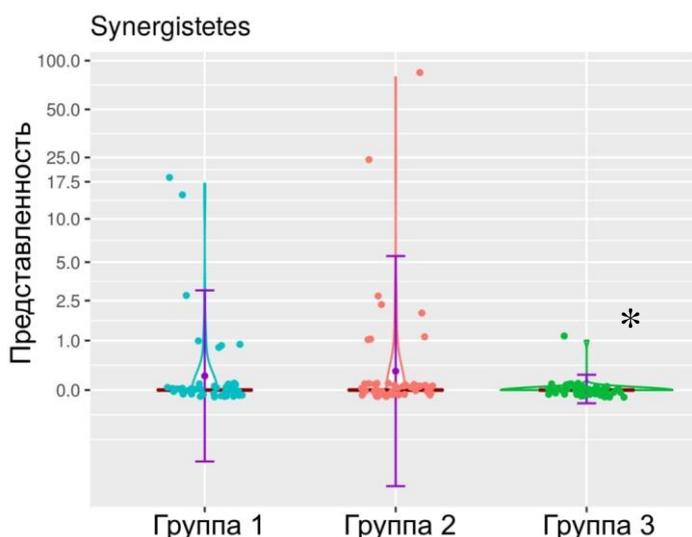


Рисунок 16 – Различия в представленности бактерий типа Synergistetes между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность типа приведена в логарифмическом виде (Log1p). * различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 2, $p < 0,05$.

В результате проведенного анализа выявлены значимые различия в представленности двух семейств в исследуемых образцах (таблица 19).

Таблица 19 – Различия в составе кишечной микробиоты на уровне семейств между исследуемыми группами

Семейство микроорганизмов	Группа 1	Группа 2	Группа 3	$p^{\#}$
Enterobacteriaceae	31,62 (9,94)	150,61(48,97)*	21,03 (6,76)**	$< 0,01$
Atopobiaceae	12,44(4,9)	6,69 (3,24)	0,57 (0,24) ***	$< 0,01$

Примечание – данные для каждого таксона в группе представлены в виде $emmean \pm SE$; $\#$ различия в представленности таксонов статистически значимы при уровне $p < 0,05$ (ANOVA, значения p даны с поправкой FDR); * различия значимы при сравнении с Группой 1, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test); ** различия значимы при сравнении с Группой 2, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test); *** различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 2, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test).

Так, на уровне семейств в микробиоте кишечника пациентов с инвазией *O. felineus* в сравнении со участниками без инвазии преобладали бактерии Enterobacteriaceae (рисунок 17). Содержание Enterobacteriaceae в образцах, полученных после лечения, снижалось до уровня, сопоставимого с группой без инвазии. Дегельминтизация привела к уменьшению представленности Aporobiaceae по сравнению с группой без инвазии и пациентами с инвазией до лечения (рисунок 18)

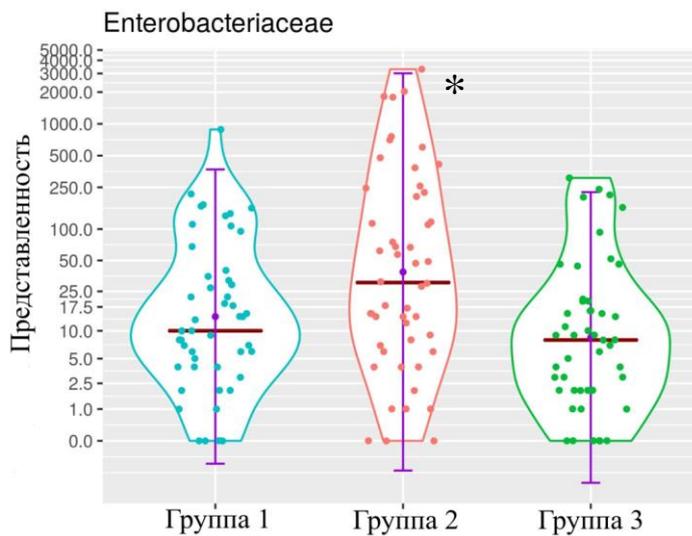


Рисунок 17 – Различия в представленности семейства Enterobacteriaceae между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность бактерий приведена в логарифмическом виде (Log1p). * различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 3, $p < 0,05$.

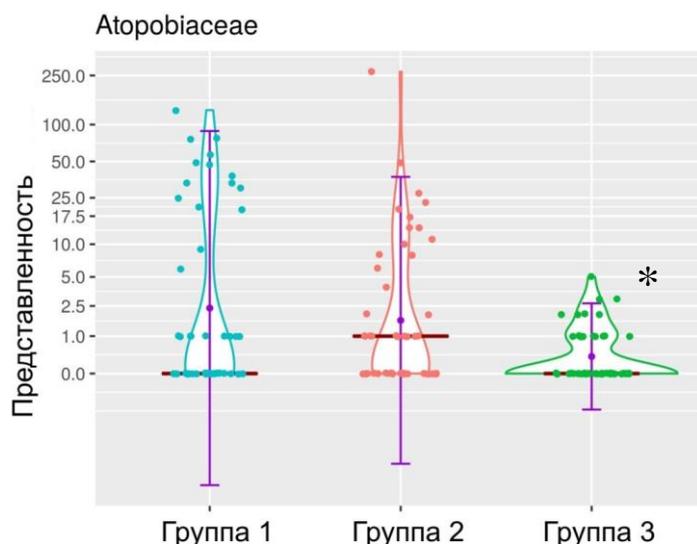


Рисунок 18 – Различия в представленности семейства Атопобиасеае между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность бактерий приведена в логарифмическом виде (Log1p). * различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 2, $p < 0,05$.

В микробиоте кишечника у пациентов с описторхозом по сравнению с группой неинвазированных детей выявлено снижение представленности бактерий рода *Blautia*, группы *Eubacterium hallii*, *Lachnospiraceae* FCS020 и увеличение содержания *Anaerosporobacter*, *Ruminiclostridium* 6, группы *Eubacterium eligens*, *Lachnospira*, *Bacteroides*, *Faecalitalea*, *Barnesiella* и *Escherichia–Shigella* (Таблица 20).

Таблица 20 – Различия в составе кишечной микробиоты на уровне родов между исследуемыми группами

Род микроорганизмов	Группа 1	Группа 2	Группа 3	p [#]
<i>Escherichia–Shigella</i>	27,71 (9.21)	131,61 (45.48)*	18,66 (6.21)**	<0,01
<i>Lachnospira</i>	2,67 (0.78)	9,70 (2.83)*	4,04 (1.27)**	0,03
<i>Anaerosporobacter</i>	0,18 (0.10)	1,50 (0.70)*	0,02 (0.02)**	<0,01
<i>Ruminiclostridium</i> 6	1,72 (0.73)	6,24 (2.33)*	1,69 (0.66)**	0,04

Продолжение таблицы 20

Род микроорганизмов	Группа 1	Группа 2	Группа 3	p [#]
Группа <i>Eubacterium eligens</i>	3,42 (1.13)	13,00 (4.53)*	5,63 (1.73)	0,04
<i>Faecalitalea</i>	0,02 (0.02)	0,52 (0.29)*	1,21 (0.66)*	0,04
<i>Bacteroides</i>	105,37 (24.28)	238,04 (50.03)*	235,06 (51.92)*	0,04
<i>Barnesiella</i>	2,54 (0.81)	7,81 (2.80)*	8,97 (3.19)*	0,04
<i>Blautia</i>	789,02 (90.70)	444,76 (50.65)*	685,46 (79.62)**	0,02
Группа <i>Eubacterium hallii</i>	182,82 (22.52)	110,84 (13.55)*	123,77 (15.43)	0,04
<i>Lachnospiraceae</i> FCS020	13,90 (2.13)	6,96 (1.09)*	10,02 (1.57)	0,04
Примечание – данные для каждого таксона в группе представлены в виде mean ± SE; # различия в представленности таксонов статистически значимы при уровне p < 0,05 (ANOVA, значения p даны с поправкой FDR); * различия значимы при сравнении с Группой 1, p < 0,05 (Tukey post hoc test); ** различия значимы при сравнении с Группой 2, p < 0,05 (Tukey post hoc test).				

В результате антигельминтной терапии у детей с инвазией отмечено изменение содержания *Blautia*, *Lachnospira*, *Anaerosporeobacter*, *Ruminiclostridium* 6 и *Escherichia–Shigella* до сопоставимого с уровнем данных таксонов у детей, не страдающих инвазией, а со стороны представленности родов группы *Eubacterium hallii*, *Eubacterium eligens*, *Lachnospiraceae* FCS020, *Bacteroides*, *Faecalitalea*, *Barnesiella* – значимых изменений не обнаружено (Рисунок 19, 20).

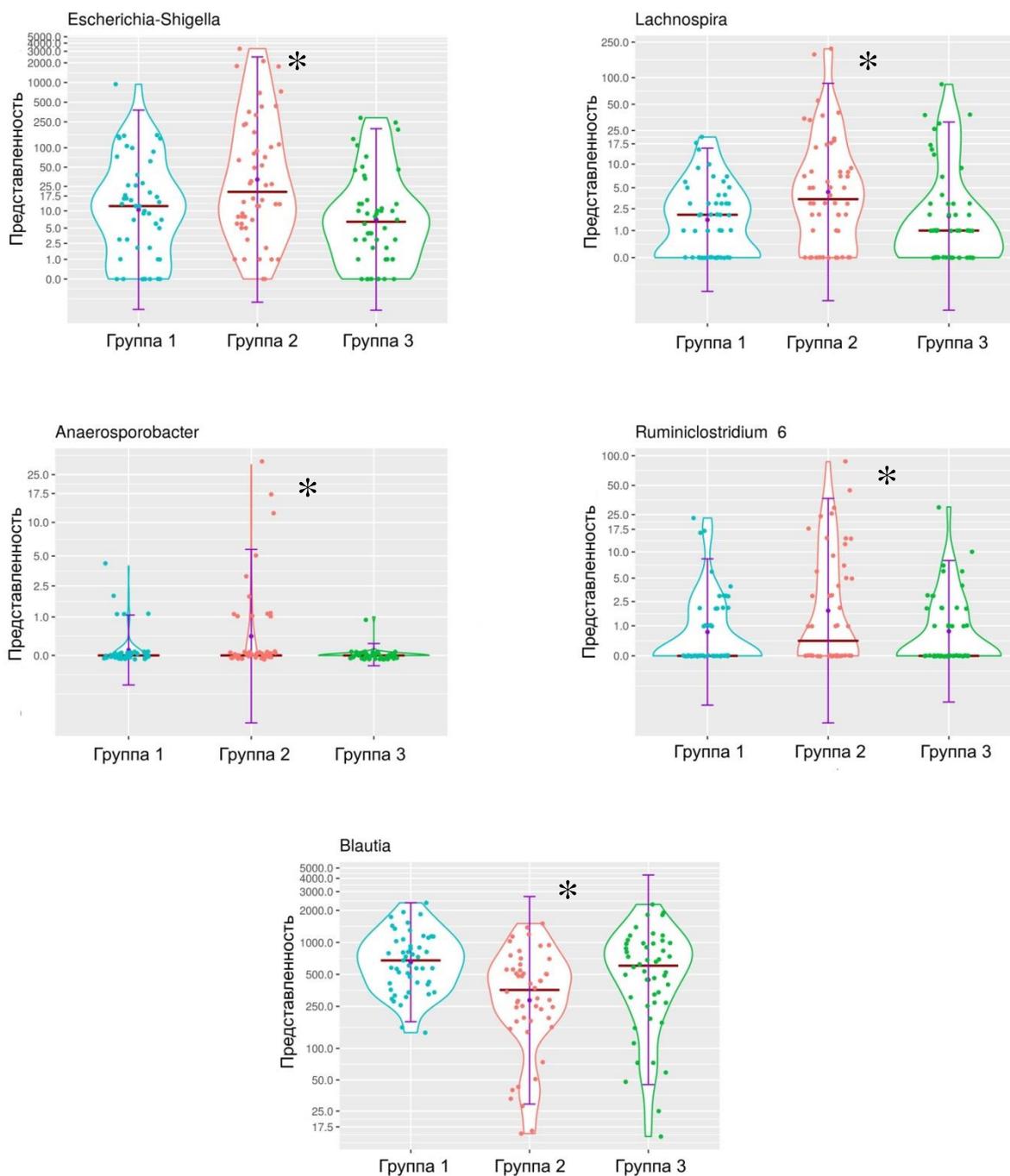


Рисунок 19 – Различия в представленности бактерий на уровне родов между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность бактерий приведена в логарифмическом виде (Log_{1p}). * различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 3, $p < 0,05$.

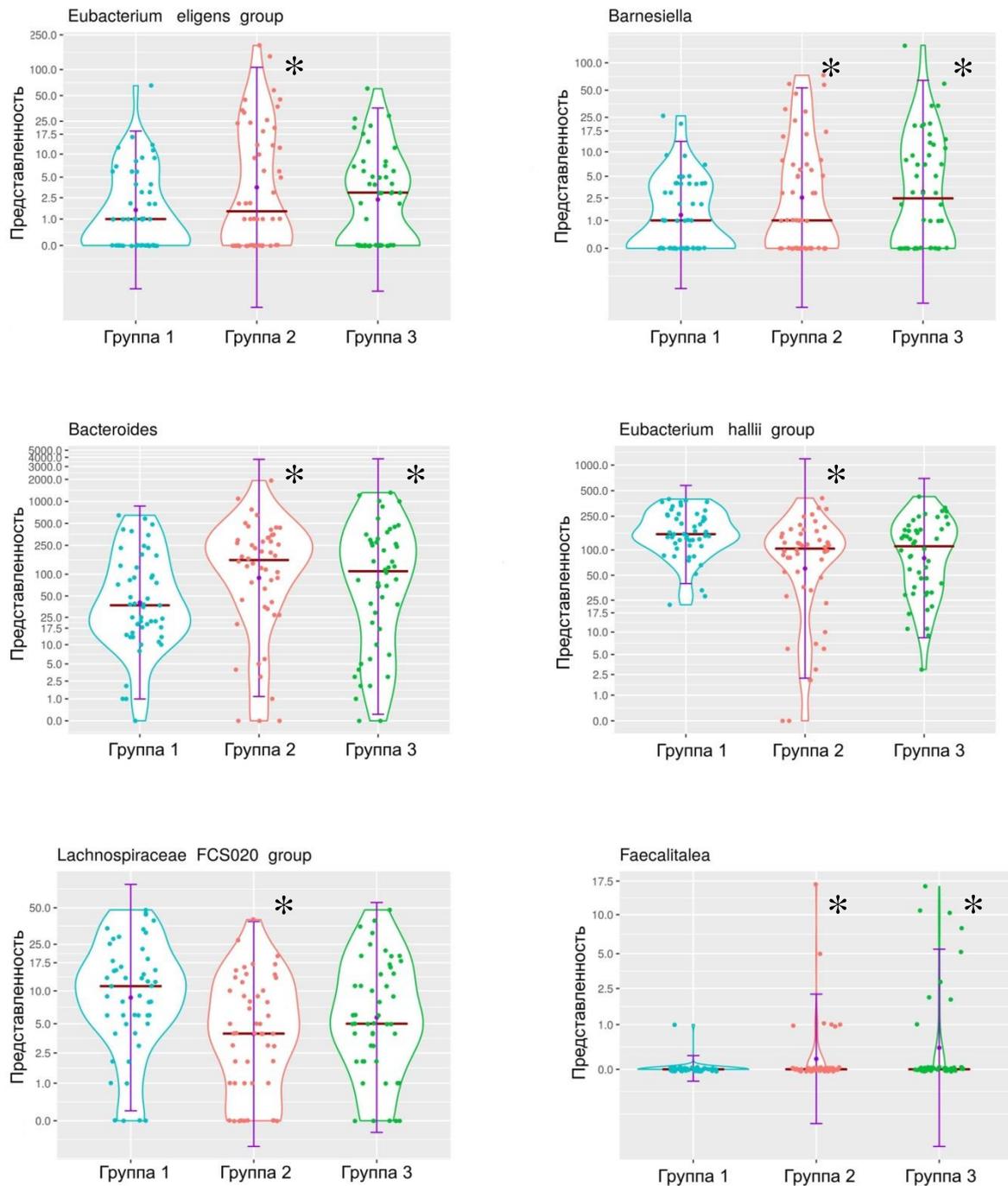


Рисунок 20 – Различия в представленности бактерий на уровне родов между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность бактерий приведена в логарифмическом виде (Log_{10}). * различия значимы при сравнении с Группой 1, $p < 0,05$.

В то же время в микробиоте кишечника у пациентов после лечения обнаружено более высокое содержание микроорганизмов родов *Flavonifactor*, *Leuconostoc* и *Oscillibacter*, чем у детей без инвазии (Таблица 21).

Таблица 21 – Различия в составе кишечной микробиоты на уровне родов между исследуемыми группами

Род микроорганизмов	Группа 1	Группа 2	Группа 3	p [#]
<i>Flavonifactor</i>	0,36 (0.16)	0,95 (0.33)	1,68 (0.57)*	0,03
<i>Leuconostoc</i>	0,12 (0.10)	0,52 (0.37)	4,60 (3.24)*	0,03
<i>Oscillibacter</i>	0,99 (0.26)	2,19 (0.53)	3,05 (0.88)*	0,04
Группа <i>Ruminococcus</i> <i>gnavreaii</i>	45,35 (9.55)	26,35 (5.86)	18,38 (4.13)*	0,04
<i>Howardella</i>	3,39 (1.10)	1,14 (0.39)	0,79 (0.28)*	0,04
<i>Slackia</i>	3,04 (0.87)	1,96 (0.57)	0,79 (0.25)*	0,04
<i>Lachnospiraceae</i> <i>NK4A136</i>	11,35 (2.13)	18,14 (3.34)	6,23 (1.21)**	<0,01
<i>Lachnospiraceae</i> <i>ND3007</i>	6,15 (1.53)	7,86 (1.97)	3,04 (0.93)**	0,04
<i>Tyzzerella</i> 4	1,45 (0.74)	3,10 (1.54)	0,25 (0.14)**	0,03
<i>Prevotella</i> 2	2,14 (1.28)	11,62 (6.78)	0,75 (0.46)**	0,04
<i>Megasphaera</i>	16,96 (11.86)	18,52 (12.82)	0,04 (0.04)***	<0,01
<i>Roseburia</i>	54,37 (9.86)	53,60 (9.38)	27,8 (4.97)***	0,03
<i>Olsenella</i>	3,51 (1.42)	2,26 (0.91)	0,25 (0.12)***	<0,01
Группа <i>Rikenellaceae</i> RC9	2,31 (1.36)	2,70 (1.57)	0,13 (0.09)***	0,02
<i>Sellimonas</i>	1,49 (0.76)	1,08 (0.55)	19,4 (9.71)***	<0,01
<i>Faecalibacterium</i>	0,90 (0.32)	2,07 (0.61)	5,94 (1.79)***	<0,01
<i>Erysipelatoclostridium</i>	1,13 (0.45)	1,10 (0.37)	3,40 (1.38)***	0,04
<i>Varibaculum</i>	0,02 (0.02)	0,18 (0.10)	2,48 (1.22)***	<0,01
<i>Eisenbergiella</i>	1,18 (0.58)	0,88 (0.43)	9,40 (4.51)***	0,01

Примечание – данные для каждого таксона в группе представлены в виде $\text{emmean} \pm \text{SE}$; [#] различия в представленности таксонов статистически значимы при уровне $p < 0,05$ (ANOVA, значения p даны с поправкой FDR); * различия значимы при сравнении с

Группой 1, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test); ** различия значимы при сравнении с Группой 2, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test); *** различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 2, $p < 0,05$ (Tukey post hoc test).

Численность бактерий группы *Ruminococcus gnavreaii*, *Howardella* и *Slackia* в образцах микробиоты пациентов после терапии была ниже, чем у детей без инвазии. Также выявлено снижение представленности группы *Lachnospiraceae* NK4A136 и ND3007, *Tyzzerella* 4, *Prevotella* 2 в сравнении с уровнем данных бактерий в образцах, полученных до антигельминтной терапии. В образцах кишечной микробиоты пациентов после дегельминтизации зарегистрировано снижение количества бактерий рода *Megasphaera*, *Roseburia*, *Olsenella*, *Rikenellaceae* RC9 gut group и увеличение *Sellimonas*, *Eisenbergiella*, *Erysipelatoclostridium*, *Varibaculum*, *Faecalibacterium* в сравнении с образцами, полученными до дегельминтизации и с участниками без инвазии (Рисунок 21).

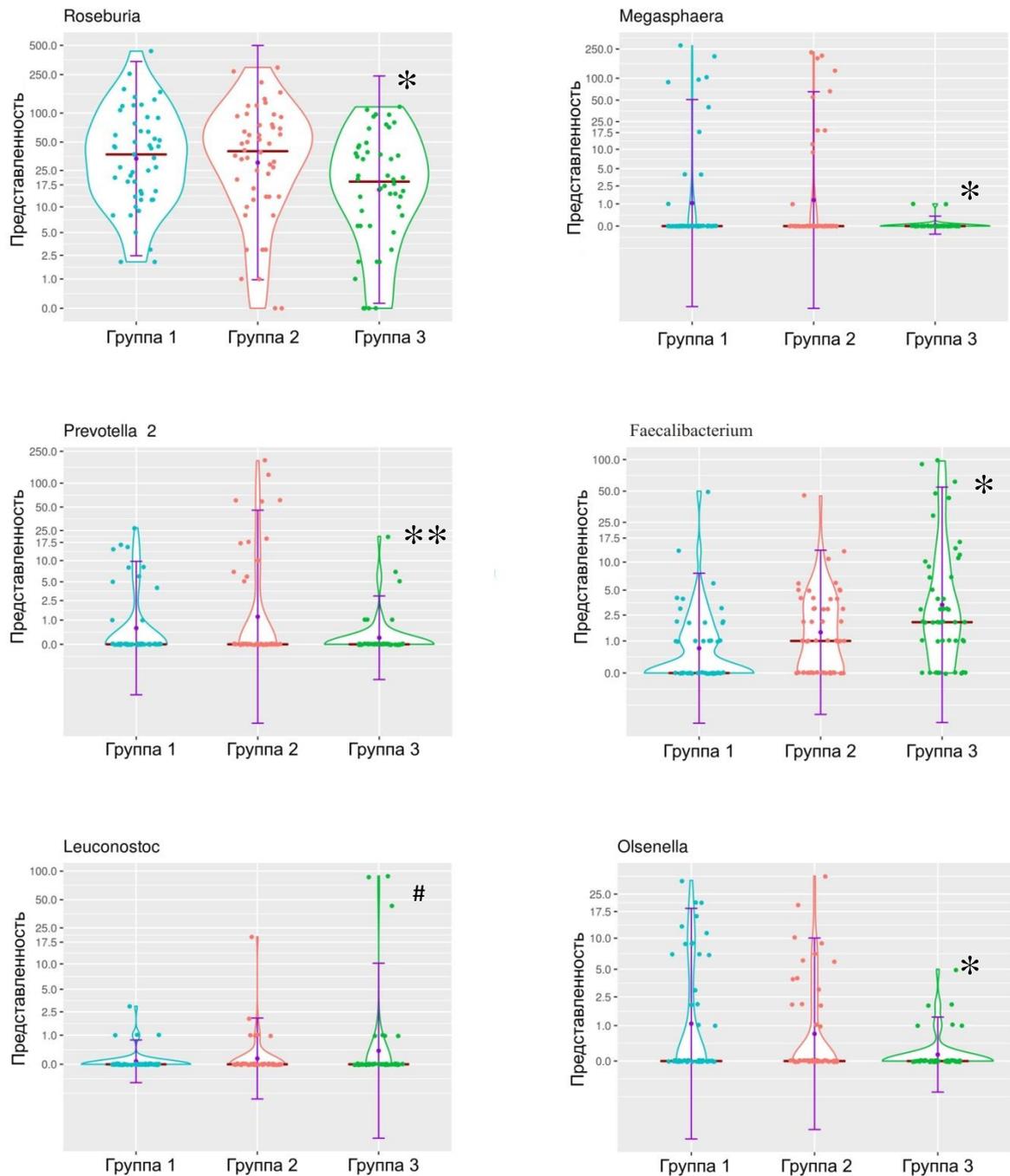


Рисунок 21 – Различия в представленности бактерий на уровне родов между исследуемыми группами

Примечание – красной чертой на графике обозначена медиана представленности микроорганизмов, фиолетовой точкой – среднее значение представленности, «усами» – стандартное отклонение от среднего. Представленность бактерий приведена в логарифмическом виде (Log_{1p}), здесь и далее. * различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 2, $p < 0,05$; ** различия значимы при сравнении с Группой 2, $p < 0,05$; # различия значимы при сравнении с Группой 1, $p < 0,05$.

5.4 Состояние микробиоты кишечника в зависимости от интенсивности инвазии

Для выявления связей между интенсивностью инвазии и уровнями микробных таксонов проведен статистический анализ микробиоты пациентов с инвазией *O. felineus* с использованием модели отрицательной биномиальной регрессии. На уровне типов выявлено, что рост представленности Firmicutes ($R = 0,55$, $p < 0,01$) и Tenericutes ($R = 0,57$, $p = 0,02$) положительно связан с интенсивностью инвазии. Содержание бактерий, относящихся к типам Verrucomicrobia ($R = -0,4$, $p = 0,02$) и Proteobacteria ($R = -0,36$, $p = 0,04$), напротив, уменьшалось при увеличении интенсивности инвазии (Рисунок 22).

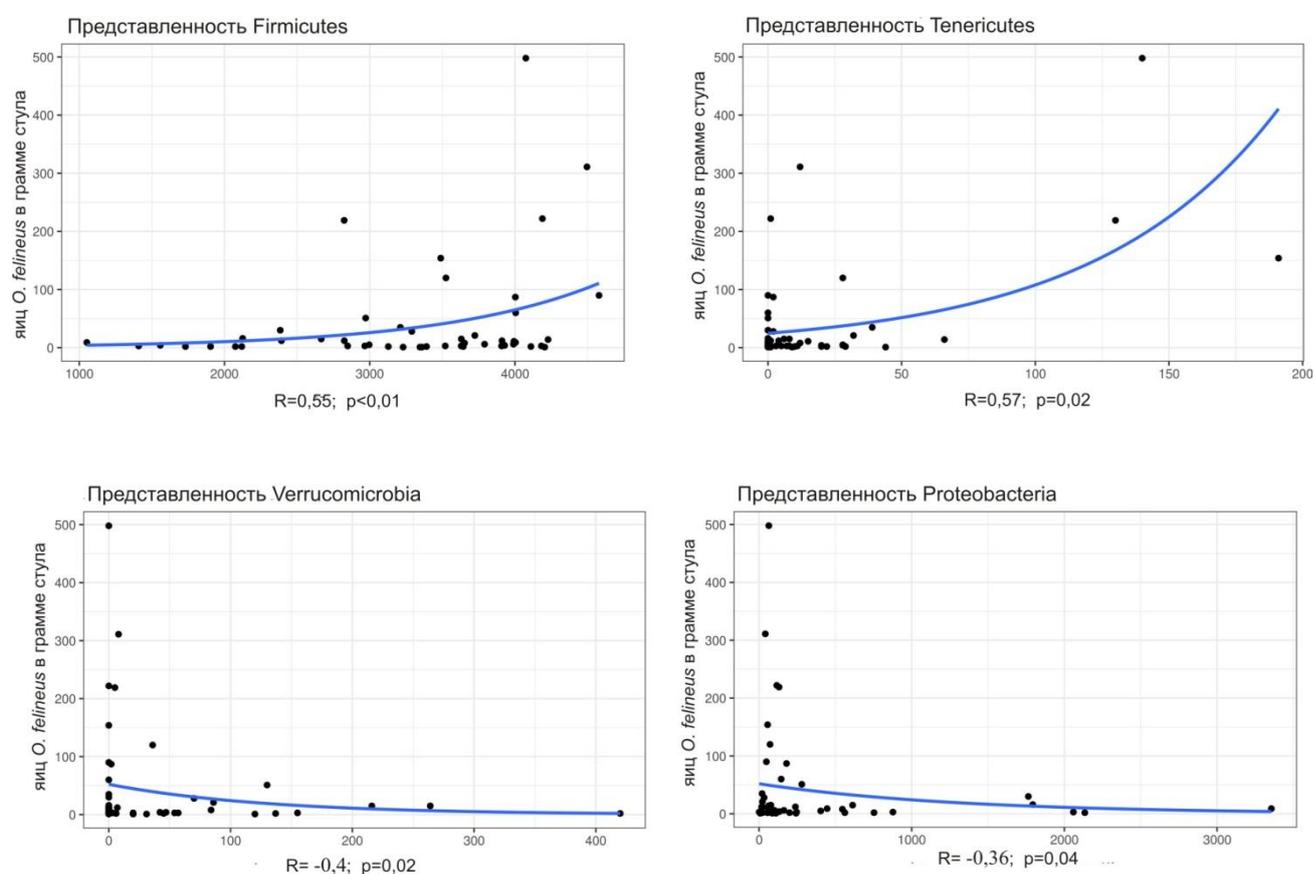


Рисунок 22 – Графики представленности микроорганизмов на уровне типа в микробиоте кишечника у пациентов с описторхозом в зависимости от интенсивности инвазии

Примечание – значения $R > 0$ указывают на положительную корреляцию между численностью бактерий и интенсивностью инвазии, а значения $R < 0$ указывают на отрицательную корреляцию.

На уровне семейств, выявлена ассоциация интенсивности инвазии с представленностью *Desulfovibrionaceae* ($R = 0,33$, $p = 0,02$) и *Erysipelotrichaceae* ($R = 0,52$, $p < 0,01$), и отрицательная связь для *Bifidobacteriaceae* ($R = -0,55$, $p < 0,01$; Рисунок 23).

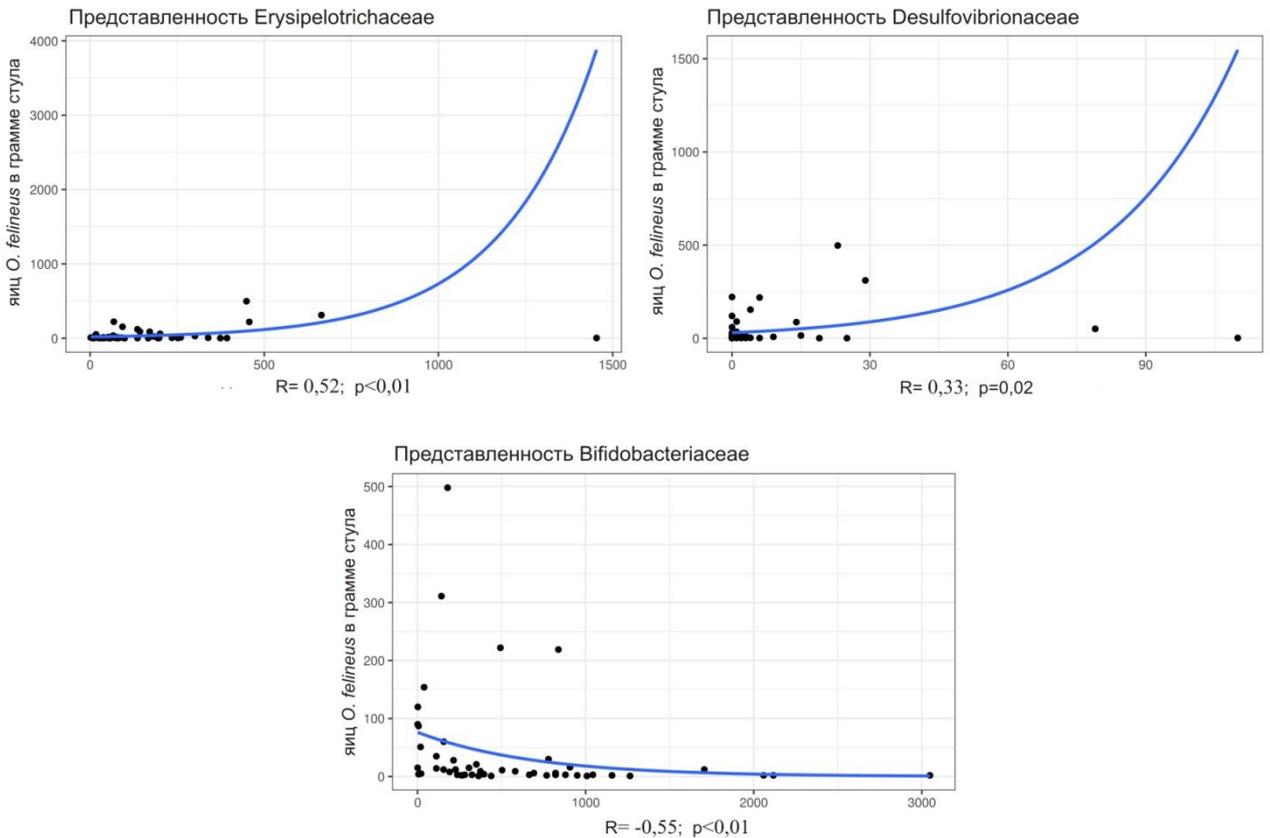


Рисунок 23 – Графики представленности микроорганизмов на уровне семейств в микробиоте кишечника у пациентов с инвазией *O. felineus* в зависимости от интенсивности инвазии

Примечание – значения $R > 0$ указывают на положительную корреляцию между численностью бактерий и интенсивностью инвазии, а значения $R < 0$ указывают на отрицательную корреляцию.

Соответствующие тенденции отмечены на уровне родов: представленность бактерий родов *Desulfovibrio* ($R = 0,41$, $p = 0,01$), *Catenibacterium* ($R = 0,62$, $p = 0,03$), *Eubacterium coprostanoligenes* group ($R = 0,3$, $p = 0,01$), *Mitsuokella* ($R = 0,48$, $p = 0,03$), *Rikenellaceae* RC9 gut group ($R = 0,57$, $p = 0,03$),

Ruminococcaceae UCG– 003 ($R = 0,34$, $p = 0,03$), *Moryella* ($R = 0,42$, $p = 0,03$), *Olsenella* ($R = 0,46$, $p = 0,01$), *Candidatus Soleaferrea* ($R = 0,57$, $p = 0,03$), *Howardella* ($R = 0,52$, $p = 0,01$), *Enterorhabdus* ($R = 0,39$, $p = 0,04$), и *Senegalimassilia* ($R = 0,44$, $p = 0,03$) коррелировала с интенсивностью инвазии *O. felineus*. Отрицательная ассоциация установлена между интенсивностью инвазии и представленностью родов *Erysipelatoclostridium* ($R = - 0,51$, $p = 0,01$), *Bifidobacterium* ($R = - 0,55$, $p = 0,01$), *Anaerostipes* ($R = - 0,49$, $p = 0,01$), *Gordonibacter* ($R = - 0,54$, $p = 0,01$), *Akkermansia* ($R = 0,4$, $p = 0,04$) и *Eubacterium hallii* group ($R = - 0,37$, $p = 0,01$).

5.5 Особенности микробиоты кишечника в зависимости от клинических проявлений инвазии *Opisthorchis felineus*

На основании клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования пациенты, страдающие инвазией *O. felineus*, стратифицированы на три подгруппы в зависимости от клинического течения описторхоза с использованием классификации, предложенной в национальном руководстве «Педиатрия» [37]:

– Группа 2А ($n = 22$) – клинически выраженная форма с явлениями холепатии: наличие жалоб на боль в правом подреберье, повышение уровня билирубина, УЗ–признаки (утолщение и неровность стенки желчного пузыря, наличие эхогенного содержимого в желчном пузыре);

– Группа 2В ($n = 18$) – клинически выраженная форма с явлениями гастродуоденопатии: наличие жалоб на боль в эпигастральной области, диспепсических проявлений, по данным эзофагогастродуоденоскопии признаков гастродуоденита умеренной и выраженной степени, дуоденогастрального рефлюкса, отсутствие по данным ультразвукового исследования изменений гепатобилиарной системы;

– Группа 2С (n = 10) – пациенты с латентной формой и не имеющие симптомов поражения гепатобилиарной системы по данным УЗИ и желудочно–кишечного тракта по данным эндоскопического исследования.

В результате оценки α –разнообразия по индексам таксономического разнообразия Фэйта и Шеннона значимых различий между исследуемыми группами не выявлено.

На следующем этапе работы проведен сравнительный анализ бактериального состава кишечной микробиоты на разных таксономических уровнях у пациентов, страдающих инвазией *O. felineus*, в зависимости от клинических проявлений заболевания (Таблица 22).

Таблица 22 – Различия в составе метагенома между подгруппами пациентов с инвазией *O. felineus*

Семейство/Род	Группа 2А	Группа 2В	Группа 2С	p [#]
Methanobacteriaceae	7,29(0,66)*	14,33(1,09)*	18,29 (1,04)*	<0,01
Staphylococcaceae	17,76 (8,7)	2,5(1,52)**	2 (1,03)**	0,04
Atopobiaceae	5,59(2,79)*	0,42(0,31)*	20,24 (9,94)*	0,01
Pasteurellaceae	4,35(2,1)	0,58 (0,39)**	0,47(0,28)**	0,04
<i>Holdemanella</i>	55,59 (1,81)*	25,33 (1,45)*	32,06 (1,37)*	<0,01
<i>Senegalimassilia</i>	6,59 (0,62)	9,42 (0,89)**	11,41 (0,82)**	<0,01
<i>Lachnospiraceae</i> UCG– 001	0,71 (0,35)***	16,58 (8,1)	0,76 (0,38)***	<0,01
Примечание – данные для каждого таксона в группе представлены в виде М ± SD; # различия в представленности таксонов статистически значимы при уровне p<0,05 (ANOVA, значения p даны с поправкой FDR); * различия значимы при сравнении между группами, p<0,05 (Tukey post hoc test); ** различия значимы при сравнении с Группой 2А, p<0,05 (Tukey post hoc test); *** различия значимы при сравнении с Группой 2В, p<0,05 (Tukey post hoc test)				

В сравнительном аспекте у пациентов с клинически выраженной формой с явлениями холепатии (группа 2А) в образцах кишечной микробиоты зарегистрированы снижение представленности микроорганизмов семейства

Methanobacteriaceae, рода *Senegalimassilia* и повышение Pasteurellaceae, Staphylococcaceae и рода Holdemanella в сравнении с группами 2B и 2C. Образцы микробиоты кишечника пациентов группы 2B отличались более высоким содержанием бактерий рода *Lachnospiraceae* UCG-001 и снижением представленности Atorobiaceae в сравнении с группами 2A и 2C. В то же время, более высокие уровни Methanobacteriaceae, Atorobiaceae и рода *Senegalimassilia* зарегистрированы у пациентов с латентной формой.

Сравнение интенсивности инвазии, выраженной в количестве яиц *O. felineus* в одном грамме стула, в подгруппах показало, что пациенты с клинически выраженной формой с явлениями гастродуоденопатии характеризуются более высоким уровнем интенсивности инвазии, чем дети с симптомами холепатии (коэффициент линейной модели $1,16 \pm 1,47$, $p = 0,03$). Различий в интенсивности инвазии между пациентами с латентной формой и другими подгруппами не выявлено (Рисунок 24).

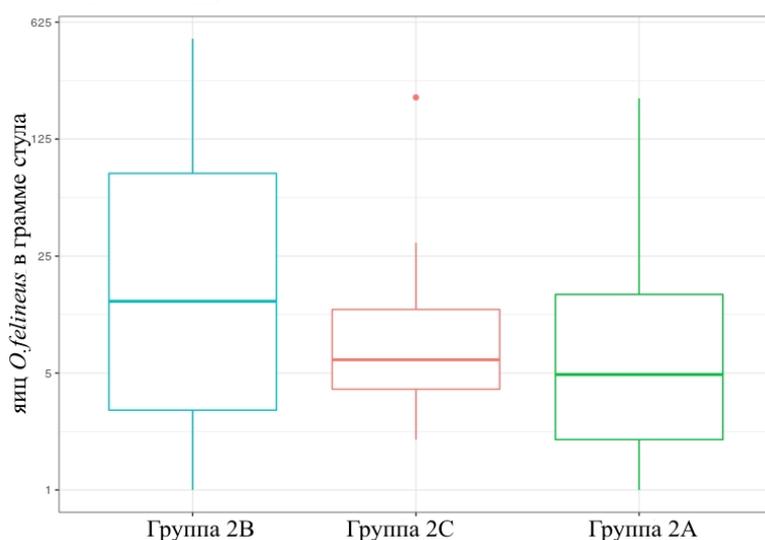


Рисунок 24 – Различия интенсивности инвазии *O. felineus* в зависимости от клинических проявлений заболевания

Примечание – чертой внутри прямоугольников на графике обозначены медианы значений, границы – первый и третий квартили, точками обозначены выбросы.

Таким образом, проведенный анализ показал, что сообщество микроорганизмов кишечника у детей, страдающих инвазией *O. felineus*, до и

после антигельминтной терапии, характеризуются столь же разнообразным таксономическим составом, что и микробиота детей, не имеющих инвазии. Однако, для пациентов с описторхозом выявлена значимая положительная ассоциация между интенсивностью инвазии, измеряемой как количество яиц гельминта в одном грамме стула, и α -разнообразием кишечной микробиоты. При оценке β -разнообразия микробиоты выявлены различия между составом микробиоты кишечника пациентов, страдающих инвазией *O. felineus*, и участников без инвазии ($R^2 = 0,05$; $p = 0,01$), а также между образцами, полученными у пациентов после антигельминтного лечения и у детей, не страдающих инвазией ($R^2 = 0,07$; $p < 0,01$).

В составе кишечной микробиоты пациентов с инвазией *O. felineus* выявлен ряд количественных особенностей при сравнении со участниками без инвазии. Об этом свидетельствуют статистически значимые различия в представленности бактерий на разных таксономических уровнях. Так, на уровне типа образцы кишечной микробиоты, полученные от пациентов с инвазией, характеризовались более высокой представленностью типа Proteobacteria и уменьшением доли Firmicutes по сравнению с образцами, предоставленными после дегельминтизации, и группы без инвазии. На уровне семейств в микробиоте пациентов с инвазией *O. felineus* в сравнении с неинвазированными участниками преобладали бактерии Enterobacteriaceae. Через три месяца после лечения выявлено снижение представленности Enterobacteriaceae до уровня, характерного для группы детей, не имевших инвазии, а также снижение доли Atopobiaceae по сравнению с неинвазированными и пациентами с инвазией до терапии. Между исследуемыми группами обнаружены различия в представленности 30 родов. В микробиоте кишечника у пациентов с описторхозом по сравнению с детьми без инвазии выявлено снижение представленности бактерий рода *Blautia*, группа *Eubacterium hallii*, *Lachnospiraceae* FCS020 и увеличение содержания *Anaerosporobacter*, *Ruminiclostridium* 6, группа *Eubacterium eligens*, *Lachnospira*, *Bacteroides*, *Faecalitalea*, *Barnesiella* и *Escherichia-Shigella*. Изменения в представленности бактерий родов *Blautia*, *Lachnospira*, *Anaerosporobacter*,

Ruminiclostridium 6 и *Escherichia-Shigella*, ассоциированные с инвазией *O. felineus*, после антигельминтной терапии сопоставимы с уровнем данных таксонов у детей, не страдающих инвазией. Напротив, изменения в некоторых микробиотических сообществах, выявленных у пациентов с инвазией, сохранялись и через три месяца после дегельминтизации (группы *Eubacterium hallii* и *Eubacterium eligens*, *Lachnospiraceae* FCS020, *Bacteroides*, *Faecalitalea*, *Barnesiella*). В микробиоте кишечника у пациентов после лечения выявлена более высокая представленность микроорганизмов родов *Flavonifractor*, *Leuconostoc* и *Oscillibacter* и снижение группа *Ruminococcus gauvreauii*, *Howardella* и *Slackia*, чем у детей без инвазии. Также выявлено снижение представленности группы *Lachnospiraceae* NK4A136 и ND3007, *Tyzzarella* 4, *Prevotella* 2 в сравнении с уровнем данных бактерий в образцах, полученных до антигельминтной терапии. В образцах кишечной микробиоты пациентов после дегельминтизации зарегистрировано снижение количества бактерий рода *Megasphaera*, *Roseburia*, *Olsenella*, группа *Rikenellaceae* RC9 и увеличение *Sellimonas*, *Eisenbergiella*, *Erysipelatoclostridium*, *Varibaculum*, *Faecalibacterium* в сравнении с образцами, полученными до дегельминтизации и группы без инвазии.

В результате анализа выявлены ассоциации в представленности микроорганизмов на разных таксономических уровнях и интенсивностью инвазии. Так, представленности Firmicutes и Tenericutes положительно связаны с интенсивностью инвазии. Содержание бактерий, относящихся к типам Verrucomicrobia и Proteobacteria, напротив, уменьшалось при увеличении интенсивности инвазии. На уровне семейств, интенсивность инвазии ассоциирована с представленностью Desulfovibrionaceae и Erysipelotrichaceae и обратно взаимосвязана с представленностью Bifidobacteriaceae. На уровне рода представленность бактерий родов *Desulfovibrio*, *Catenibacterium*, группа *Eubacterium coprostanoligenes*, *Mitsuokella*, группа *Rikenellaceae* RC9, *Ruminococcaceae* UCG-003, *Moryella*, *Olsenella*, *Candidatus Soleaferrea*, *Howardella*, *Enterorhabdus*, и *Senegalimassilia* коррелировала с интенсивностью инвазии *O. felineus*. Отрицательная ассоциация установлена между

интенсивностью инвазии и представленностью родов *Erysipelatoclostridium*, *Bifidobacterium*, *Anaerostipes*, *Gordonibacter*, *Akkermansia* и группа *Eubacterium hallii*.

В рамках исследования выполнен сравнительный анализ состава микробиоты в зависимости от клинических проявлений описторхоза: клинически выраженные формы с явлениями холепатии и гастродуоденопатии, латентная форма. В результате оценки между данными подгруппами выявлены различия в представленности четырех семейств и трех родов. Так, у пациентов с клинически выраженной формой с явлениями холепатии зарегистрировано снижение представленности микроорганизмов семейства *Methanobacteriaceae*, рода *Senegalimassilia* и повышение *Pasteurellaceae*, *Staphylococcaceae* и рода *Holdemanella* в сравнении с другими подгруппами. Образцы микробиоты кишечника пациентов с клинически выраженной формой с явлениями гастродуоденопатии отличались более высоким содержанием бактерий рода *Lachnospiraceae* UCG-001 и снижением представленности *Atorobiaceae* в сравнении с пациентами, имеющих латентное течение и клинически выраженную форму с симптомами холепатии. В то же время, более высокие уровни *Methanobacteriaceae*, *Atorobiaceae* и рода *Senegalimassilia* зарегистрированы у пациентов с латентной формой.

6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы накоплено множество данных, указывающих на то, что одним из важнейших факторов, определяющих состояние здоровья человека, является микробиота кишечника. Начиная с первых дней жизни организм ребенка колонизируется микробиотическим сообществом, численность и состав которого усложняется с возрастом. При этом, наиболее интенсивная колонизация происходит в кишечнике, влияя на множество функций, включая метаболизм и формирование иммунной системы. Показано, что кишечная микробиота связана с развитием ряда хронических неинфекционных заболеваний, включая патологию пищеварительной системы [138; 169; 243; 274].

Однако, помимо кишечной микробиоты, другие патогены, такие как гельминты, могут сосуществовать в пищеварительной системе человека, вызывая иммунные регуляторные реакции. Согласно гигиенической гипотезе, а также же «гипотезе старых друзей», уменьшение инфекционной нагрузки (гельминтные инвазии, микробные агенты) в развитых странах связано с более высокой распространенностью аллергических и аутоиммунных болезней [169; 220; 274]. Одновременно с этим длительное течение гельминтной инвазии способствует развитию хронических болезней органов пищеварительной системы [38]. Предполагается, что воздействие на состав и функцию кишечного микробиома является одним из механизмов, посредством которых гельминты влияют на иммунитет хозяина и способствуют развитию хронических заболеваний [54; 86]. В настоящее время является актуальным исследование влияния гельминтозов на микробиом кишечника и опосредовано – на здоровье населения в эндемичных регионах.

Цель настоящего исследования – установить значение таксономического разнообразия микробиоты кишечника в развитии патологии пищеварительного тракта на фоне инвазии *Opisthorchis felinus* у детей и подростков.

Для реализации поставленных задач исследование выполнено в три этапа с использованием комплексного подхода, объединяющего клиничко–

эпидемиологические, лабораторные, инструментальные и молекулярно-генетические методы исследования.

6.1 Эпидемиологические и клинические аспекты инвазии *Opisthorchis felineus* у детей в эндемичном регионе

Этап I. Скрининговый (планирование и результаты)

Первый, скрининговый, этап выполнен в рамках одномоментного эпидемиологического исследования распространенности инвазии *O. felineus* в рандомизированной выборке в эндемичном регионе Томской области. Протокол эпидемиологического исследования разработан совместно со Швейцарским Институтом тропической медицины и общественного здоровья, г. Базель, Швейцария. Общая численность выборки составила 600 человек, в том числе 85 детей в возрасте 7–18 лет. Участникам исследования проводили комплексное обследование, включающее следующие процедуры: сбор медицинского анамнеза, физикальное обследование, интервьюирование при помощи специально разработанного клинического вопросника, ультразвуковое исследование печени и желчевыводящей системы, биохимический анализ сыворотки крови, двукратную микроскопию образцов стула с определением интенсивности инвазии.

Таким образом, для исследования распространенности инвазии *O. felineus* сформирована репрезентативная выборка детского населения, которая позволит экстраполировать полученные данные на эндемичный регион в целом. Для выполнения исследования выбран Шегарский район Томской области, в котором представлен типичный для Томской области образ жизни (большинство населения занято в сельскохозяйственной и деревообрабатывающей промышленности, широко распространен рыбный промысел). Комплексное обследование участников исследования позволило не только установить данные о распространенности инвазии *O. felineus*, но и оценить влияние описторхоза на состояние детского здоровья в эндемичном регионе.

Распространенность и интенсивность инвазии Opisthorchis felineus

Согласно результатам скринингового этапа (в ходе одномоментного эпидемиологического исследования) установлено, что распространенность инвазии *O. felineus* у детей, проживающих в эндемичном регионе, составила 17,6 % и имеет тенденцию к увеличению с возрастом (11,6 % – в группе детей 7–10 лет, 23,8 % – в группе детей 11–18 лет).

Анализ научных публикаций показал, что в эндемичных регионах РФ эпидемиологические исследования распространенности инвазии *O. felineus* выполнены более 20 лет назад, и отмечается дефицит актуальных данных [223]. По данным предыдущего исследования в ряде регионов на территории Обь–Иртышского бассейна, инвазия *O. felineus* выявлена в среднем у 62 % детей, при этом в возрасте до трех лет инвазия зарегистрирована у 21 % детей, а к 14 годам распространенность достигала 69 % [35]. В северных районах Томской области и Ханты–Мансийском автономном округе сообщалось о наличии описторхоза во всех возрастных группах и увеличении распространенности инвазии с возрастом до 50–100 % у детей старше 10 лет [5; 6; 9]. Предыдущее эпидемиологическое исследование в Томской области показало, что около 30 % детей в возрасте от 7 до 15 лет имеют инвазию *O. felineus* [39].

В нашем исследовании мы обнаружили различные показатели распространенности инвазии *O. felineus* в зависимости от географического расположения населенного пункта. Так, наиболее высокие показатели распространенности выявлены в селах Монастырка (100 %) и Каргала (75 %). Относительно низкую распространенность отмечали в селе Вороновка (16,7), которое расположено на значительном расстоянии от реки Обь и крупных озер. В селе Мельниково – административном центре района, несмотря на близость крупной реки, распространенность инвазии были относительно ниже, что связано с урбанизированным образом жизни населения. В предыдущем эпидемиологическом исследовании, выполненном в разных районах Томской области, также показана значительная вариабельность показателей распространенности инвазии *O. felineus* у детей в зависимости от района

проживания и близостью расположения крупных притоков Оби и составляла от 10,5 до 57,1 % [39].

Анализ интенсивности инвазии *O. felineus* показал, что количество яиц гельминта в грамме фекалий варьировало в диапазоне 2–3800 (среднее значение $321 \pm 969,2$). В соответствии с ранее предложенной классификацией низкая интенсивность инвазии (≤ 999 яиц в грамме стула) выявлена у 93,3 % и средняя – у 6,7 % детей с инвазией *O. felineus* [221]. Нам удалось только в одном ранее выполненном исследовании обнаружить данные об интенсивности инвазии у детей. Так, в исследовании, выполненном более 20 лет назад на территории Обь–Иртышского речного бассейна, показано, что интенсивность инвазии у детей составила в среднем 130 яиц гельминта в одном грамме стула, что также указывает на преимущественно низкую интенсивность инвазии в детском возрасте [35].

В настоящее время в большинстве публикаций представлены данные о заболеваемости хроническим описторхозом, основанной на обращаемости пациентов в лечебные учреждения, что не отражает истинной распространенности инвазии. Согласно данным официальной статистики в течение последних лет показатель заболеваемости описторхозом сохраняется на уровне около 20 тысяч случаев в год. Описторхоз регистрируется во всех возрастных группах, а среди детей до 17 лет ежегодно выявляют около двух тысяч новых случаев [28].

Таким образом, важным достижением настоящего исследования является актуализация данных о распространенности и интенсивности инвазии *O. felineus* у детей в эндемичном регионе. Установлено, что распространенность инвазии *O. felineus* в детском и подростковом возрасте превышает показатели официальной статистики и сохраняется на значимом уровне, что оказывает влияние на формирование здоровья детского населения в эндемичных регионах.

Осведомленность детей об инвазии O. felineus

Известно, что высокие показатели заболеваемости населения описторхозом обусловлены и социальными факторами, в т. ч. привычки употреблять в пищу

термически необработанную рыбу, увеличением в рационе питания населения прибрежных городов и поселков количества рыбы и рыбопродуктов домашнего приготовления, увеличением числа рыбаков–любителей. В рамках настоящего исследования установлено, что детское население не имеет достаточно знаний о способах заражения и профилактики инвазии *O. felineus*. Так, осведомленность об описторхозе детского населения составила 63,5 %, при этом в группе детей в возрасте 7–10 лет данный показатель статистически значимо ниже, чем в возрасте 11–18 лет (42,2 и 74 % соответственно, OR = 2,2; 95 % CI 1,3–3,8; p = 0,001). В то же время осведомленность в группе детей почти в два раза ниже по сравнению со взрослыми [131]. Анализ данных интервьюирования показал, что дети имеют неверные представления о путях заражения описторхозом и способах профилактики и только 35,8 % респондентов указали, что основной причиной описторхоза является потребление речной рыбы в термически недостаточно обработанном виде.

В другом исследовании в результате анкетирования учащихся старших классов, проживающих на эндемичных по описторхозу территориях Тюменской области и автономных округов, установлено, что низкий уровень знаний мер профилактики является важным фактором распространения инвазии *O. felineus* [4].

Таким образом, интервьюирование детского населения продемонстрировало низкий уровень знаний о способах заражения и профилактики инвазии *O. felineus*. В этой связи важным аспектом интегративных программ по контролю над инвазией *O. felineus* должна являться разработка образовательных программ для детского и подросткового населения.

Клиническое течение инвазии O. felineus

Инвазия *O. felineus* характеризуется полиморфизмом и не специфичностью клинических проявлений. В детском возрасте превалирует низкая интенсивность инвазии, что сопряжено с минимальными клиническими проявлениями, но достаточными для поддержания хронического воспаления. Вследствие этого

затрудняется своевременная диагностика и лечение описторхоза, что приводит к длительному течению болезни и прогрессированию патоморфологических изменений гепатобилиарной системы [36; 165].

Результаты настоящего исследования показали, что в большинстве случаев у детей развивается клинически выраженная форма болезни (80 %). Так, дети, страдающие описторхозом, чаще предъявляли жалобы на диспептические проявления, нарушения стула, слабость, повышенную утомляемость, чем дети без инвазии *O. felineus*. Наиболее часто дети предъявляли жалобы на боль в животе, в том числе в правом подреберье, однако данный симптом встречался с одинаковой частотой у детей с инвазией *O. felineus* и у неинвазированных участников (80 % и 57 %, соответственно, $p = 0,04$). Наши данные о клинических проявлениях инвазии частично согласуются с ранее проведенным исследованием описторхоза у детей в Томской области, согласно которому наиболее распространенными симптомами при описторхозе являются боль в области правого подреберья, головная боль, слабость, головокружение, тошнота, снижение аппетита [39]. При исследовании биохимических показателей сыворотки крови не выявлено значимых маркеров поражения гепатобилиарной системы у детей с инвазией *O. felineus*. Вероятно, отсутствие этих изменений связано с тем, что в детском возрасте превалирует низкая интенсивность и меньшая продолжительность инвазии.

Высокоинформативным методом в оценке анатомио–функционального состояния гепатобилиарной системы является ультразвуковое исследование. По данным ультразвукового исследования печени и желчевыводящей системы у детей, страдающих описторхозом, в сравнении с неинвазированными участниками чаще выявляли изменения, свидетельствующие о развитии хронического холецистита (утолщение и неровность стенки желчного пузыря, наличие эхогенного содержимого, 71,4 % и 37,1 % соответственно, OR = 1,9; 95 % CI 1,2–3,1; $p = 0,012$). Признаки перидуктального фиброза первой степени чаще регистрировали у пациентов, страдающих инвазией, чем в контрольной группе (26,7 % и 8,6 %, соответственно, OR = 3,1; 95 % CI 1,0–9,7; $p = 0,04$). При этом,

данные признаки выявлены только у пациентов старше 12 лет. Полученные нами результаты согласуются с другими исследованиями, показывающими прогрессирующее эхоструктурных изменений в гепатобилиарной системе по мере увеличения продолжительности инвазии, и в большей степени характерных для взрослых пациентов [50, 63]. По данным ультразвукового исследования у подростков 15–18 лет с хроническим описторхозом наиболее часто выявляют расширение сегментарных желчных протоков, Вирсунгова протока, диффузные изменения структуры печени и поджелудочной железы [43].

На втором этапе (клинико–фармакологическом) получены дополнительные к скрининговому этапу лабораторно–инструментальные данные о течении инвазии *O. felineus* у детей. По данным лабораторного обследования у троих пациентов, страдающих инвазией *O. felineus*, у 30 % отмечали эозинофилию в периферической крови. В ряде исследований показано, что повышенное содержание эозинофильных гранулоцитов является одним из первых, а иногда и единственным признаком патологического процесса, обусловленного инвазией *O. felineus*. Так, в острую фазу данного гельминтоза содержание эозинофилов достигает 20–40 %, иногда – до 90 % [47]. В то же время при хроническом описторхозе, по данным разных авторов, эозинофилия встречается примерно у половины заболевших – от 44 до 65 % [2; 30].

По результатам эндоскопического обследования большинство детей имели умеренные или выраженные проявления дуоденита, реже регистрировали дуоденогастральный рефлюкс с признаками рефлюкс–гастрита (16 %) и признаки рефлюкс–эзофагита (35 %). Полученные результаты согласуются с данными других исследований [2]. Так, у 36 % детей, страдающих описторхозом, выявляли признаки гастро–эзофагеальной рефлюксной болезни и у 15 % – дуодено–гастральный рефлюкс, при этом изменения гастродуоденальной зоны различной формы и степени выраженности отмечены у большинства детей [2; 44]. По данным эндоскопического исследования у взрослых обнаружена прямая зависимость между длительностью и интенсивностью инвазии *O. felineus* и

степенью изменений ДПК, прогрессированием гастроэзофагеального рефлюкса [31; 43; 44].

Таким образом, установлено, что инвазия *O. felineus* в детском возрасте в большинстве случаев протекает в клинически выраженной форме. Хроническое персистирующее воспаление в гепатобилиарной системе на фоне инвазии *O. felineus* приводит к возникновению ультрасонометрических признаков хронического холецистита и перидуктального фиброза, которые манифестируют в детском возрасте. По данным предыдущих исследований показано, что гельминты модифицируют микробиом кишечника, который, в свою очередь, может влиять на клиническое течение инвазии. В связи с этим становится актуальным изучение микробиоты кишечника как одного из факторов, способствующих формированию патологии на фоне инвазии *O. felineus*.

Этап II. Клинико–фармакологический (планирование и результаты)

Второй этап, клинико–фармакологический, выполнен в дизайне проспективного исследования «случай–контроль». Для реализации клинико–фармакологического этапа сформирована группа пациентов, страдающих инвазией *O. felineus* (n = 50), которым проведена дегельминтизация препаратом празиквантел с последующим динамическим наблюдением в течение трех месяцев. Группу сравнения составили дети, не имеющие инвазии *O. felineus* по результатам паразитологического исследования, а также не страдающие острыми и хроническими болезнями (n = 50). На данном этапе всем участникам выполнено комплексное обследование, включающее сбор медицинского анамнеза, физикальное обследование, интервьюирование при помощи специально разработанного клинического вопросника, ультразвуковое исследование печени и желчевыводящей системы, анализ периферической крови, биохимический анализ сыворотки крови, эзофагогастродуоденоскопию, двукратную микроскопию образцов стула с определением интенсивности инвазии.

Дегельминтизация празиквантелом и динамическое наблюдение пациентов

Основной антигельминтный препарат, использующийся в России для лечения описторхоза – празиквантел. В рамках второго этапа исследования все пациенты с инвазией *O. felineus* получили терапию празиквантелом в дозе 60 мг/кг в сутки в три приема с интервалом между приемами 4 часа. В исследованиях показано, что с увеличением дозы празиквантела возрастает риск развития нежелательных явлений, а уменьшение дозы приводит к снижению эффективности [114; 115].

Проспективное наблюдение пациентов показало, что дегельминтизация празиквантелом имела достаточно высокий профиль безопасности у пациентов детского возраста, с низкой частотой нежелательных реакций – только 14 % детей предъявляли жалобы в первые сутки после приема препарата, среди которых головная боль, слабость, снижение аппетита, тошнота и боль в животе. Все нежелательные явления относились к категории легких. По данным предыдущих исследований безопасности применения празиквантела в детском возрасте показано, что наиболее часто регистрируют такие симптомы, как сонливость, боль в животе, головная боль и головокружение, реже – диарея, зуд кожи. [282; 283]. При этом все нежелательные явления относились к легким или умеренным и имели кратковременный характер [283]. По данным исследований частота развития нежелательных реакций и их выраженность значительно варьируют в зависимости от дозы препарата, возраста пациентов, длительности и интенсивности инвазии, подходов к оценке клинических симптомов. Так, при дегельминтизации празиквантелом в дозе 40 мг/кг в два приема нежелательные явления (тошнота и головокружение) отмечены у 0,6 % детей [35]. При антигельминтной терапии шистосомоза празиквантелом в дозе 40 мг/кг у детей в возрасте от 1 года до 18 лет около половины участников испытывали, по крайней мере, одно из зарегистрированных нежелательных явлений [283].

Эффективность дегельминтизации подтверждали по результатам микроскопии образцов стула. Так, через один месяц после антигельминтного лечения положительные результаты паразитологического исследования отмечали у 8 % пациентов, через три месяца – дегельминтизация показала 100 %

эффективность у детей, что, вероятно, связано с низкой интенсивностью инвазии у больных в момент включения в исследование. По данным предыдущих исследований, эффективность празиквантела ниже у детей с более высокой интенсивностью инвазии и выше у детей младшего возраста [166]. В нескольких клинических исследованиях была проведена оценка эффективности празиквантела при антигельминтной терапии *O. viverrini* при различных дозировках. Эффективность антигельминтной терапии *O. viverrini* празиквантелом в дозе 75 мг / кг (96,6 %) была значительно выше, чем после однократной дозы 40 мг / кг (71,4 %) [115].

В результате динамического наблюдения после антигельминтного лечения отмечено, что у большинства пациентов через три месяца регистрировали клиническое улучшение, которое выражалось в снижении частоты болей в животе, тошноты, зудящих высыпаний. По данным УЗИ после дегельминтизации через три месяца значимо реже регистрировали наличие эхогенного содержимого в желчном пузыре (20 % и 32 %, соответственно, $p = 0,02$), что свидетельствует об улучшении реологических свойств желчи. Однако, сохранялись изменения в гепатобилиарной системе в виде утолщения стенки желчного пузыря и неоднородности структуры паренхимы печени, являющиеся признаками хронического воспаления. Возможно, данные изменения поддерживаются за счет нарушения состава микробиотических сообществ, вызванного длительной инвазией *O. felineus*.

Таким образом, по результатам клинико–фармакологического этапа выявлено, что дегельминтизация празиквантелом в дозе 60 мг/кг имеет достаточно высокий профиль безопасности и эффективности у пациентов детского возраста, с низкой частотой нежелательных реакций. Динамическое наблюдение детей после антигельминтного лечения показало, что клиническое улучшение регистрируется через 3 месяца. Однако, по данным УЗИ после дегельминтизации через три месяца сохраняются изменения в гепатобилиарной системе в виде утолщения стенки желчного пузыря и неоднородности структуры паренхимы печени.

6.2 Микробиота кишечника на фоне инвазии *O. felineus* и ее клиническое значение

Этап III. Исследование микробиоты кишечника (планирование и результаты)

Для анализа состава микробиоты кишечника сформированы следующие группы: 1 – дети, не страдающие инвазией *O. felineus* (n = 50), 2 – дети с инвазией *O. felineus* до антигельминтного лечения (n = 50) и группа 3 – пациенты через 3 месяца после дегельминтизации празиквантелом (n = 48). Все участники трех групп предоставили образцы стула для дальнейшего выделения бактериальной ДНК и идентификации состава кишечной микробиоты с использованием технологии секвенирования. Мы использовали метод ампликонного секвенирования микробиоты по фрагменту V4 гена бактериальной 16S рРНК. Данный метод анализа является наиболее точным для оценки таксономического состава исследуемых образцов. При всей эффективности бактериоскопических и бактериологических методик, полноценное исследование бактериальных сообществ затруднено, поскольку до 90 % микроорганизмов не поддаются культивированию в лабораторных условиях [107]. Поэтому в настоящее время для характеристики сложных и многокомпонентных микробных сообществ в совокупности наиболее применимы молекулярно– генетические методы, основанные на прочтении бактериального генома – всей последовательности либо определенного гена [147]. Ампликонный подход к получению метагеномных данных заключается в секвенировании целевого фрагмента метагенома, позволяющего определить какие таксоны и в каких пропорциях присутствуют в образце. В качестве ампликона – филогенетического маркера в данном подходе используется ген, кодирующий 16S субъединицу бактериальной рРНК и содержащий высококонсервативные и вариабельные (V1–V9) регионы. Высококонсервативные участки характеризуются высокой степенью сходства между всеми бактериями, а состав вариабельных регионов зависит от видовой и родовой принадлежности микроорганизма, благодаря этому становится возможным идентификация путем сравнения обнаруженных в ходе секвенирования замен с базой данных. В нашем исследовании для идентификации

таксономической принадлежности бактерий мы использовали переменный участок V4 последовательности гена 16S рРНК. Данный участок широко используется в исследованиях кишечной микробиоты человека [59; 205; 215]. Хотя секвенирование более длинной области привело бы к более точной таксономической классификации каждого прочтения, регион V4 позволяет дать более точную оценку архей, чем применение V3–V4 (из-за изменчивости длины ампликона для этих прокариот). Поскольку каждая область гена вызывает определенное смещение, альтернативой может быть использование смеси праймеров, охватывающих несколько областей гена [101; 232]. Сравнительный анализ влияния гипервариабельных регионов на структуру микробиотических сообществ показал, что регион V4 обеспечивает более точное представление истинного сообщества в сравнении с другими гипервариабельными областями гена [232; 277]. Ампликонное секвенирование позволяет достаточно точно определить таксономический состав исследуемого образца. Однако, данный метод не дает прямой информации о функциональном составе изучаемого сообщества, в отличие от полногеномного секвенирования или масс-спектрометрического анализа. Но данные методы, в свою очередь, отличаются высокой стоимостью, сложностью выполнения эксперимента и анализа данных. При помощи некоторых методов на основе данных, полученных в результате ампликонного секвенирования, возможно выполнить реконструкцию метаболического потенциала микробиоты [231]. Таким образом, для реализации цели нашего исследования выбран метод секвенирования по фрагменту V4 гена 16S рРНК как наиболее оптимальный метод оценки таксономического состава микробиоты кишечника.

Разнообразие микробиоты кишечника отражает состояние здоровья, причем благоприятным является более высокое разнообразие [273]. Низкий уровень α -разнообразия микробиоты зачастую свидетельствует о протекании патологических процессов в месте колонизации. В частности, для микробиоты кишечника показана связь снижения таксономического разнообразия с наличием воспалительных заболеваний кишечника [169].

Проведенный анализ показал, что кишечная микробиота у детей, страдающих инвазией *O. felineus*, характеризуется столь же разнообразным таксономическим составом, что и микробиота неинвазированных детей. Однако, для пациентов с описторхозом выявлена значимая положительная ассоциация между интенсивностью инвазии, измеряемой как количество яиц гельминта в одном грамме стула, и α -разнообразием кишечной микробиоты. Согласно предыдущему экспериментальному исследованию инвазия *O. felineus* связана с увеличением бактериального разнообразия в желчных протоках [15]. В другом исследовании, у взрослых пациентов с желчекаменной болезнью инвазия *O. felineus* не влияла на разнообразие желчной микробиоты [72]. При экспериментальном описторхозе патофизиологические эффекты, связанные с инвазией, могут быть более выражены из-за однородности анализируемой группы животных, одинаковой интенсивности и длительности инвазии, что позволяет исключать влияние на исследуемые параметры дополнительных факторов. В нашем исследовании мы не обнаружили увеличения α -разнообразия микробиоты у детей, вероятно, из-за низкой интенсивности инвазии. Также следует отметить, что распространение инвазии *O. felineus* в эндемичном регионе относится к одному из факторов, формирующих популяционные особенности микробиоты, в том числе посредством передачи микробиоты от матери к ребенку, внутрисемейной «передаче» микробиоты от больных хроническим описторхозом [144; 160]. В данном контексте описторхоз следует рассматривать как экологический фактор, определяющий здоровье населения в эндемичном регионе.

Состав микробиоты кишечника на разных таксономических уровнях

Полученные данные о представленности бактерий в образцах исследуемых групп на различных таксономических уровнях частично соотносятся с результатами, полученными другими коллективами при исследовании микробиоты кишечника методом секвенирования 16S рРНК как у взрослых, так и детей [82; 119]. При этом имеются некоторые особенности в соотношении сообществ микроорганизмов. Так, в среднем соотношение

Firmicutes/Bacteroidetes у исследуемых детей составило 7,5. Соотношение Firmicutes/ Bacteroidetes значительно варьирует в зависимости от возраста, географического расположения и диетических предпочтений. Так, по данным исследований у детей из Европы и Северной Америки в составе микробиоты отмечали более высокое отношение Firmicutes/ Bacteroidetes (3,2 и 3,9, соответственно), чем у детей из Африки и Центральной Америки (около 0,6). В нашем исследовании структура сообщества, в которой преобладают *Firmicutes* и *Actinobacteria* и в меньшей степени Bacteroidetes, приблизительно соответствует составу кишечной микробиоты населения в восточной части России и сельских регионах, потребляющих богатую крахмалом пищу, а также жителей Индии и Китая [153]. Предположительно, такой состав бактериального сообщества обусловлен высоким потреблением богатой крахмалом пищи, такой как рис, овсянка, картофель, очищенные зерна, пшеничная мука, которые являются типичными основными продуктами питания в сельской местности России [180; 239].

На уровне семейств в микробиоте кишечника во всех группах преобладали Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Bifidobacteriaceae, Bacteroidaceae, Prevotellaceae. В структуре идентифицированных родов у детей доминировали *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Agathobacter*, и *Prevotella*. Представленный состав на данном таксономическом уровне соответствует данным других исследований, посвященных изучению микробиоты у детей методом секвенирования 16S рРНК, но отличается количественной представленностью преобладающих семейств и родов [82].

Влияние инвазии O. felineus на микробиоту кишечника

По данным проведенного исследования микробиота кишечника пациентов, страдающих инвазией *O.felineus*, и неинвазированных детей различается количественной представленностью ряда таксонов микроорганизмов. В основном, значительные изменения микробиоты выявлены в пределах типа Firmicutes, включая отряд Clostridiales. Этот результат согласуется с предыдущими

исследованиями микробиоты кишечника у пациентов, страдающих нематодозами – *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, *A. duodenale* [106; 225].

На уровне типа у пациентов с инвазией *O. felineus* в образцах микробиоты выявлена более высокая представленность типа Proteobacteria (преимущественно за счет Enterobacteriaceae) и уменьшение доли Firmicutes по сравнению с образцами, полученными в группе детей, не страдающих инвазией. Напротив, в результате анализа в зависимости от интенсивности инвазии выявлена положительная связь с представленностью Firmicutes и отрицательная ассоциация с Proteobacteria. Уменьшение количества Firmicutes и увеличение провоспалительных таксонов Proteobacteria является одним из признаков микробного дисбактериоза при воспалительных заболеваниях кишечника и гепатобилиарной системы [105].

Анализ состава микробиоты на уровне родов показал, что инвазия *O. felineus* способствует снижению относительной численности комменсальных Firmicutes (*Blautia*, группа *Eubacterium hallii*, *Lachnospiraceae* FCS020) и увеличение представленности *Lachnospira* в сравнении с детьми без инвазии. Данные микроорганизмы относятся к продуцентам КЦЖК [253]. Одним из потенциальных биомаркеров состояния кишечника, часто рассматриваемым в исследованиях микробиома, является относительное количество бактерий, продуцирующих бутират [77; 96]. Показано, что представленность бактерий, которые ферментируют пищевые волокна с образованием КЦЖК, обычно снижается у пациентов с ВЗК по сравнению со здоровыми людьми [96; 184; 240]. КЦЖК, такие как ацетат, пропионат и бутират, являются важными метаболитами в поддержании кишечного гомеостаза. Бутират является основным источником энергии для кишечных эпителиальных клеток [206]. Значительное уменьшение продукции бутирата и других КЦЖК приводит к дефициту энергообеспечения и дистрофическим изменениям покровного эпителия кишечника, повышается проницаемость кишечного барьера по отношению к антигенам пищевого и микробного происхождения, нарушается всасывание воды и электролитов. Все это способствует развитию хронических воспалительных заболеваний толстого

кишечника, значительно усугубляющих дисбаланс в кишечной микробиоте [240]. В экспериментальном исследовании показано, что бутират, являясь продуктом микробной ферментации в толстом кишечнике, регулирует дифференцировку T-регуляторных клеток (Treg) [172]. При этом, противовоспалительный эффект бутирата не ограничивается только кишечником. В экспериментальном исследовании показано, что увеличение концентрации продуцируемых бактериями КЦЖК при инвазии кишечными гельминтами, способствует снижению выраженности аллергического воспаления дыхательных путей у хозяина [175]. А также показано, что перенос микробиоты, модифицированной гельминтами, в отсутствие живых гельминтов снижает уровень провоспалительных цитокинов у мышей– реципиентов с индуцированной астмой [175]. Инвазия кишечными гельминтами, вероятно, увеличивает концентрацию продуцируемых бактериями КЦЖК, и, как следствие, способствует снижению аллергического воспаления в слизистой дыхательных путей. С другой стороны, данный механизм может способствовать развитию хронической паразитарной инвазии [89; 201]. В результате исследования выявлено, что инвазия *O. felineus* ассоциирована как с увеличением, так и снижением представленности бактерий, продуцирующих КЦЖК, в том числе бутират, и поэтому необходимы дальнейшие исследования для подтверждения данной гипотезы.

На уровне рода численность группы *Eubacterium eligens* была значительно увеличена у детей, инфицированных *O. felineus*. *E. eligens* – это вид из Firmicutes, разлагающий пектин, обладает противовоспалительным потенциалом, способствуя выработке IL-10 эпителиальными клетками [229]. У детей, страдающих инвазией, отмечали увеличение численности других представителей Firmicutes – *Anaerosporbacter*, *Ruminiclostridium 6*, *Faecalitalea*. По результатам исследований представленность анаэробной спорообразующей бактерии рода *Anaerosporbacter* имеет отрицательную связь с неалкогольной жировой болезнью печени [210]. Однако, клиническое значение данных микроорганизмов в настоящее время изучено недостаточно.

У пациентов с инвазией *O. felineus* выявлена более высокая представленность семейства Enterobacteriaceae, включая род *Escherichia–Shigella*, в сравнении с группой детей без инвазии. По данным экспериментального исследования увеличение представленности Enterobacteriaceae ассоциировано с инвазией *O. viverrini* у лабораторных животных [178]. Вызванные гельминтами изменения микробного разнообразия кишечника могут участвовать в развитии гепатобилиарных заболеваний [219; 247; 249]. В предыдущих исследованиях показано, что у пациентов с циррозом печени и первичным билиарным холангитом наблюдали значительное увеличение численности семейства Enterobacteriaceae по сравнению со здоровой группой [93; 171]. В другом исследовании, анализ образцов стула показал, что для пациентов с циррозом печени характерно увеличение Enterobacteriaceae, Veillonellaceae, Streptococcaceae, *Fusobacterium spp.*, и снижение представленности Bacteroidetes и Lachnospiraceae, при этом выраженность изменений состава микробиоты коррелировала со степенью тяжести болезни [81]. У пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени в микробиоте кишечника выявлено увеличение представленности *Escherichia–Shigella* [252]. Предполагается, что уменьшение количества желчных кислот, поступающих в кишечник, при заболеваниях гепатобилиарной системы способствует дисбалансу с преобладанием патогенных и провоспалительных представителей микробиоты, включая Enterobacteriaceae [244]. С другой стороны, индуцированные гельминтами изменения в кишечном микробном разнообразии могут способствовать прогрессированию патологии гепатобилиарной системы [219; 247; 249]. По данным исследований, у пациентов с гепатоцеллюлярным раком отмечали увеличение представленности *E.coli* в образцах стула в сравнении со здоровыми участниками [236]. Ассоциация штаммов B2 *E. coli* с онкологическими заболеваниями может рассматриваться как результат, а не причина канцерогенеза [121]. Однако, способность некоторых штаммов *E. coli* колонизировать опухолевую ткань достаточно высока и поэтому предложена в качестве потенциального диагностического метода для раннего выявления различных видов рака. Появляется все больше свидетельств того, что

количество Enterobacteriaceae также связано с ВЗК [138; 208]. Ряд исследований показал, что у пациентов с целиакией, язвенным колитом и болезнью Крона доля кишечной палочки в микробиоте кишечника выше, чем у здоровых людей [157; 257].

По результатам нашего исследования, у детей с инвазией *O. felinus* выявлено значительное увеличение представленности родов *Bacteroides* и *Barnesiella*, принадлежащих к типу Bacteroidetes. Данные клинических исследований свидетельствуют, что многие виды *Bacteroides* являются типичными обитателями ЖКТ, однако некоторые представители рода обладают свойствами оппортунистических патогенов [66]. В соответствии с предыдущими сообщениями, бактерии вида *B. fragilis* могут продуцировать энтеротоксин, ассоциированный с язвенным колитом, стимулировать секрецию IL-8 и TNF- α в эпителиальных клетках кишечника и усиливать симптомы колита у экспериментальных животных [66; 68; 87]. Также показано, что представитель микробиоты *B. fragilis* влияет на развитие опухолей в кишечнике посредством образования бактериальных биопленок [95]. Предыдущие метагеномные исследования продемонстрировали, что образцы стула пациентов, страдающих прогрессирующей аденомой слизистых оболочек и колоректальной карциномой, имеют увеличение представленности бактерий рода *Bacteroides* spp., а именно видов *B. dorei*, *B. vulgatus* и *B. massilensis* [95]. У пациентов с фиброзом печени выявлены более высокие уровни *Bacteriodes* в сравнении со здоровыми участниками [264]. С другой стороны, некоторые штаммы этого рода обладают противовоспалительным действием [69; 74; 179]. В экспериментальном исследовании показано, что монотерапия *B. ovatus* (штамм ATCC8483) более эффективна в лечении колита в сравнении с трансплантацией фекальной микробиоты [69]. При этом показано, что введение *B. ovatus* стимулирует выработку муцина, увеличивает пролиферацию эпителиальных клеток и снижает выработку провоспалительных цитокинов при индуцированном колите у экспериментальных животных. Также в мета-анализе Zhou et al. (2016) показано,

что более низкие уровни *Bacteroides* характерны для пациентов с ВЗК, особенно в активной фазе, в сравнении со здоровыми участниками [281].

Таким образом, на основании результатов предыдущих исследований можно сделать заключение о том, что модификация микробиоты кишечника у детей с инвазией *O. felinus* характеризуется увеличением представленности микроорганизмов как с патогенным потенциалом (*Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia–Shigella*, *Bacteroides*) и уменьшением бактерий–продуцентов КЦЖК с противовоспалительным потенциалом (*Blautia*, *Eubacterium hallii*, *Lachnospiraceae* FCS020). Увеличение представленности бактерий с противовоспалительным потенциалом (*Lachnospira*, *Ruminiclostridium* б, *Eubacterium eligens*, *Faecalitalea*, *Barnesiella*) на фоне инвазии, вероятно, является компенсаторным механизмом кишечной микробиоты в поддержании гомеостаза организма.

Микробиота кишечника в зависимости от интенсивности инвазии O. felinus

В результате анализа в зависимости от интенсивности инвазии выявлены увеличение не только богатства и α -разнообразия микробиоты, но и количественное изменение некоторых микробиотических сообществ. Значимое снижение бактерий родов *Bifidobacteriaceae*, включая род *Bifidobacterium*, и *Akkermansia* наблюдали при увеличении интенсивности инвазии *O. felinus*. Как известно, род *Bifidobacterium* является основным представителем нормальной кишечной микробиоты и включает пробиотические штаммы [61]. В предыдущих исследованиях показано, что дети с бронхиальной астмой имеют относительно низкую представленность *Bifidobacterium* и *Akkermansia* в кишечной микробиоте при сравнении с детьми без аллергии [130]. Как было показано в предыдущем исследовании, численность рода *Bifidobacterium* также имеет отрицательную корреляцию с интенсивностью инвазии *C. sinensis* у пациентов [58]. Род *Akkermansia* – это бактерии, разлагающие муцин, и по данным исследований уменьшение их численности связано с воспалением и изменением метаболических процессов и рассматривается как потенциальный пробиотик

[103]. В исследованиях показано, что снижение представленности *A.muciniphila* ассоциировано с ожирением, сахарным диабетом 2 типа, ВЗК, аутизмом и аллергическими болезнями [51; 280]. Напротив, увеличение представленности *A. muciniphila* выявлено у пациентов с колоректальным раком по сравнению со здоровыми людьми [258]. Также более высокая интенсивность инвазии *O. felineus* связана со снижением содержания бутират–продуцирующих бактерий *Anaerostipes* и *Eubacterium hallii* [60].

Более высокая интенсивность инвазии у детей связана с увеличением представленности бактерий *Tenericutes*, *Erysipelotrichaceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Desulfovibrio*, *Candidatus Soleaferrea*, *Catenibacterium*, *Senegalimassilia*, *Eubacterium coprostanoligenes*, *Mitsuokella*, *Ruminococcaceae* UCG–003, *Enterorhabdus*, *Howardella*, *Olsenella*, *Moryella*, *Rikenellaceae* RC9. *Desulfovibrionaceae* и *Erysipelotrichaceae* ассоциированы с развитием метаболических нарушений, связанных с ожирением [167; 181]. *Desulfovibrio spp.* являются сульфатредуцирующими анаэробными бактериями, некоторые из которых являются причиной различных инфекционных заболеваний человека. Так, описаны случаи бактериемии, абсцесса печени, аппендицита, внутрибрюшных инфекций, связанных с бактериями рода *Desulfovibrio* [100; 216]. В исследованиях показано, что у пациентов с раком прямой кишки представленность бактерий данного вида значимо выше, чем у здоровых участников [95; 156]. Увеличение представленности бактерий *Catenibacterium* ассоциировано с хроническими заболеваниями почек, ожирением [83; 203]. В свою очередь, бактерии рода *Mitsuokella* и *Olsenella* идентифицированы в образцах тканей пародонта у пациентов, страдающих пародонтитом [134; 213; 245]. Представители рода *Enterorhabdus* ассоциированы с воспалительными заболеваниями кишечника, а также, наряду с *Howardella*, с гипергликемией [122; 276]. Результаты предыдущих исследований позволяют сделать заключение о том, что более высокая интенсивность инвазии характеризуется увеличением представленности бактерий с патогенным потенциалом и снижением потенциально пробиотических микроорганизмов. Однако, изучение роли данных

бактерий в развитии патологии человека требует дополнительных исследований.

В рамках исследования выполнен сравнительный анализ состава микробиоты в зависимости от клинических проявлений описторхоза: клинически выраженные формы с явлениями холепатии и гастродуоденопатии, латентная форма. В результате оценки между данными подгруппами выявлены различия в представленности некоторых семейств и родов. Так, у пациентов с клинически выраженной формой с явлениями холепатии зарегистрировано снижение представленности микроорганизмов семейства *Methanobacteriaceae*, рода *Senegalimassilia* и повышение *Pasteurellaceae*, *Staphylococcaceae* и рода *Holdemanella* в сравнении с другими подгруппами. *Methanobacteriaceae* представляют собой строго анаэробные археи, образующие метан как побочный продукт метаболизма. В исследованиях показана связь метаногенов с метаболическими нарушениями, абсцессами, раком толстой кишки, синдромом раздраженного кишечника с преобладанием запоров [140; 256]. Семейство *Pasteurellaceae* содержит некоторые патогенные микроорганизмы, в том числе *Haemophilus influenzae*. Бактерии семейства *Staphylococcaceae* являются обычными представителями микробиоты ЖКТ, однако, некоторые штаммы патогенны и ассоциированы с целиакией и ВЗК, сепсисом, ринитом, астмой, атопическим дерматитом (*Staphylococcus aureus*) [64]. В свою очередь, увеличение представленности рода *Holdemanella* ассоциировано с прогрессированием хронической болезни почек и дислипидемией [57].

Образцы микробиоты кишечника пациентов с клинически выраженной формой с явлениями гастродуоденопатии отличались более высоким содержанием бактерий рода *Lachnospiraceae* UCG-001 и снижением представленности *Atorobiaceae* в сравнении с пациентами, имеющих латентное течение и клинически выраженную форму с симптомами холепатии. Представители семейства *Lachnospiraceae* являются преобладающими бактериями в кишечнике человека и одними из основных продуцентов КЦЖК. В то же время, более высокие уровни *Methanobacteriaceae*, *Atorobiaceae* и рода *Senegalimassilia* зарегистрированы у пациентов с латентной формой.

Таким образом, в результате исследования установлено, что сообщества микроорганизмов кишечника у детей с инвазией *O. felinus* обладают столь же разнообразным составом, что и микробиота здоровых участников, демонстрируя принципиальное качественное (таксономическое) сходство с ней, но различаясь количественной представленностью ряда таксонов. При сопоставлении полученных данных с результатами аналогичных исследований, представленных в литературе, показано, что клиническое значение кишечной микробиоты у пациентов с инвазией *O. felinus* сочетает в себе признаки, которые одновременно как отрицательно, так и положительно связаны с различными хроническими неинфекционными заболеваниями, подчеркивая сложный характер взаимодействия гельминта с хозяином и микробиотой кишечника. Вероятно, наблюдаемая неоднозначность изменения микробиоты связана с интенсивностью инвазии и клиническими формами.

Влияние дегельминтизации празиквантелом на структуру кишечной микробиоты

Исследование кишечной микробиоты после дегельминтизации проведено через три месяца у 48 детей, имеющих отрицательные результаты микроскопии образцов стула на наличие яиц *O. felinus* и соответствующих критериям включения. Проведенный анализ состава кишечной микробиоты показал, что антигельминтная терапия не привела к значимому изменению α -разнообразия, но изменила представленность бактерий на разных таксономических уровнях. По данным других исследований также показано, что дегельминтизация празиквантелом не изменяет таксономическое разнообразие микробиоты кишечника как в ранние, так и поздние сроки после терапии [104; 177]. Напротив, антигельминтная терапия альбендазолом при инвазии нематодами приводила к снижению богатства микробиоты [150; 160].

Численность бактерий, принадлежащих к Proteobacteria и Firmicutes, семейству Enterobacteriaceae, родам *Escherichia*, *Lachnospira*, *Anaerosporobacter*, *Ruminiclostridium* 6 и *Blautia*, представленность которых отличалась у пациентов с инвазией *O. felinus*, после лечения сопоставима с уровнями, характерными для

группы детей, не страдающих инвазией. В тоже время, специфические для заболевания сдвиги для некоторых таксонов сохранялись в течение трех месяцев после лечения (*Barnesiella*, *Bacteroides*, *Faecalitalea*, *Lachnospiraceae* FCS020, группы *Eubacterium hallii* и *Eubacterium eligens*). Данные изменения находят отражение в наших результатах наблюдения пациентов с инвазией *O. felineus*. Так, после дегельминтизации через три месяца отмечена положительная динамика клинических проявлений описторхоза у детей, но по данным ультразвукового исследования у большинства участников сохранялись изменения желчного пузыря. Возможно, что на фоне инвазии *O. felineus* сформировался специфический бактериальный состав, который способствует поддержанию воспалительных процессов в гепатобилиарной системе даже в отсутствие гельминтов.

Состав микробиоты кишечника у детей после антигельминтной терапии характеризовался изменением представленности некоторых бактерий с патогенным потенциалом. Так, лечение празиквантелом связано со снижением относительной численности Synergistetes и рода *Slackia*, которые ассоциированы с заболеваниями пародонта [197; 213]. В другом исследовании показано, что увеличение доли Synergistetes характерно для взрослых пациентов с инвазией *O. felineus* в сравнении с участниками контрольной группы [72]. После дегельминтизации в сравнении с образцами микробиоты, полученными до лечения и группы детей без инвазии, отмечали более низкую представленность бактерий рода *Megasphaera*, ассоциированных с развитием холангита [56; 111]. Кишечная микробиота пациентов после дегельминтизации характеризовалась более высокими уровнями *Varibaculum*, *Leuconostoc*, *Eisenbergiella*, *Oscillibacter* вызывающих оппортунистические инфекции у человека [79; 136]. В экспериментальном исследовании продемонстрирована высокая способность некоторых штаммов *Leuconostoc* стимулировать продукцию IL-12 и IFN- γ , усиливая Th1-тип иммунного ответа [235]. Выявлено снижение представленности рода *Tyzzzeria* 4, ассоциированного с воспалительными заболеваниями кишечника и риском развития сердечно-сосудистых заболеваний [67; 143].

После дегельминтизации выявлено снижение представленности рода *Roseburia*, который относится к продуцентам КЦЖК в кишечнике [189]. Количество других бактерий, продуцирующих бутират, а именно *Faecalibacterium*, напротив, увеличено у пациентов после дегельминтизации по сравнению с образцами, полученными до лечения и у детей без инвазии. Численность *Faecalibacterium prausnitzii* снижается у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, синдромом раздраженного кишечника [125]. После терапии в образцах выявлено повышение представленности рода *Sellimonas*, который является потенциальным биомаркером восстановления гомеостаза кишечника после дисбиоза [94]. Напротив, исследования выявили ассоциацию *Sellimonas instinalis* с хроническими заболеваниями почек и ювенильным идиопатическим артритом с системным началом [57; 80]

Таким образом, дегельминтизация празиквантелом способствовала снижению представленности бактерий, которые потенциально могут влиять на развитие заболеваний гепатобилиарной системы и воспалительных заболеваний кишечника.

Заключение

Микробиота кишечника детей, страдающих инвазией *O. felineus*, характеризуется увеличением представленности бактерий с патогенным потенциалом, таких как Proteobacteria, Enterobacteriaceae, *Escherichia-Shigella*, *Bacteroides*, и снижением представленности комменсальных, с потенциальным противовоспалительным эффектом, Firmicutes (*Blautia*, *Eubacterium hallii*, *Lachnospiraceae FCS020*). По данным предыдущих исследований микробиоты кишечника подобные особенности состава ассоциированы с воспалительными заболеваниями гепатобилиарной системы и кишечника (в соответствии с результатами предыдущих исследований). На фоне инвазии *O. felineus* выявлено повышение содержания отдельных бактерий, участвующих в продукции КЦЖК и имеющих противовоспалительный потенциал (*Lachnospira*, *Ruminiclostridium* б,

Eubacterium eligens, *Faecalitalea*, *Barnesiella*), что демонстрирует возможности компенсаторного механизма микробиоты кишечника в поддержании гомеостаза при гельминтной инвазии.

Более высокая интенсивность инвазии связана с увеличением представленности бактерий с патогенным потенциалом (*Desulfovibrionaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Desulfovibrio*, *Candidatus Soleaferrea*, *Rikenellaceae RC9*, *Catenibacterium*), и снижением бактерий с потенциальными пробиотическими свойствами *Bifidobacterium* и *Akkermansia*, что сопряжено с увеличением риска развития аллергических и аутоиммунных болезней.

Через три месяца после антигельминтной терапии происходит восстановление представленности микроорганизмов Firmicutes и Proteobacteria, измененных на фоне инвазии *O. felineus*, и снижается представленность бактерий, ассоциированных с патологией гепатобилиарной системы (род *Megasphaera*) и некоторых бактерий с патогенным потенциалом (*Synergistetes*, *Atopobiaceae*, *Prevotella 2*, *Howardella*, *Slackia*). После терапии отмечается увеличение представленности важнейших продуцентов бутирата в кишечнике – бактерий рода *Faecalibacterium*.

Таким образом, инвазия *O. felineus* у детей и подростков в эндемичном регионе вносит вклад в особенности микробиоты кишечника, которые сопряжены с патологией пищеварительного тракта. Результаты проведенного исследования позволили сформулировать гипотезу о вкладе таксономического разнообразия микробиоты кишечника в развитие хронических неинфекционных заболеваний на фоне описторхоза, включая патологию пищеварительной системы (рисунок 25).

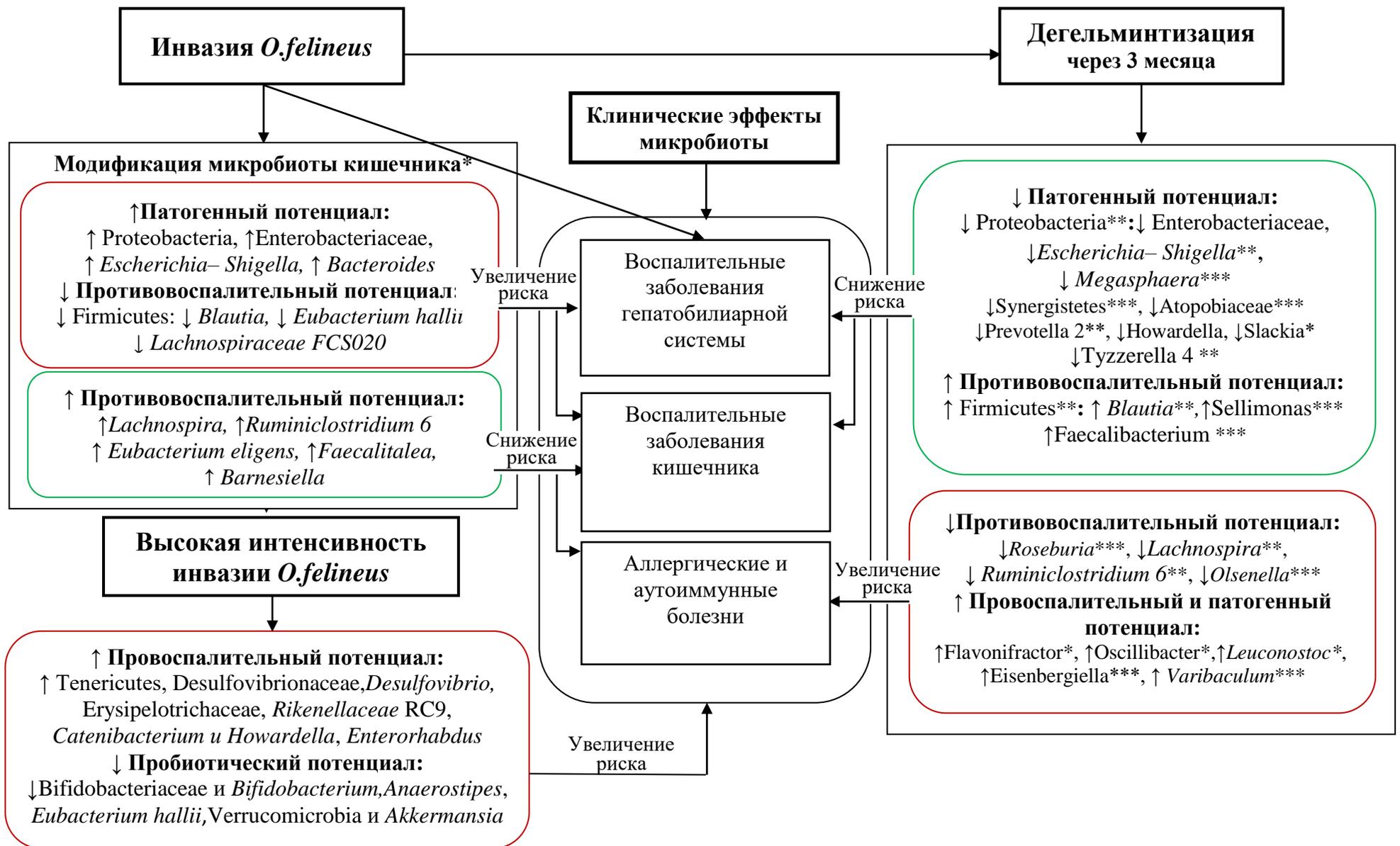


Рисунок 25 – Вклад особенностей состава микробиоты кишечника в зависимости от наличия и интенсивности инвазии *O. felinus* в развитии хронических неинфекционных заболеваний

Примечание – * различия значимы при сравнении с Группой 1, $p < 0,05$; ** различия значимы при сравнении с Группой 2, $p < 0,05$; *** различия значимы при сравнении с Группой 1 и Группой 2, $p < 0,05$.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность инвазии *O. felineus* у детей, проживающих в эндемичном регионе (Томская область), составляет 17,6 % и увеличивается с возрастом (11,6 % – в группе детей 7–10 лет, 23,8 % – у подростков). У детей и подростков преобладает низкая интенсивность инвазии (93,3 %). Инвазия *O. felineus* у детей ассоциирована с изменениями желчного пузыря в виде утолщения и неровности стенки, наличия экзогенного содержимого (OR = 1,9; 95 % CI 1,2–3,1; p = 0,01) и признаками перидуктального фиброза первой степени (OR = 3,1; 95 % CI 1,0–9,7; p = 0,04) по данным ультразвукового исследования.

2. Инвазия *O. felineus* вносит вклад в β -разнообразие кишечной микробиоты (R² = 0,05; p = 0,01). Выявлена положительная связь между интенсивностью инвазии *O. felineus*, измеряемой как количество яиц на грамм стула, и α -разнообразием кишечной микробиоты. Микробиота кишечника детей, страдающих инвазией *O. felineus*, характеризуется увеличением представленности бактерий с патогенным потенциалом (Proteobacteria, Enterobacteriaceae, *Escherichia–Shigella*, *Bacteroides*), участвующих в продукции КЦЖК и противовоспалительным потенциалом (*Lachnospira*, *Ruminiclostridium* б, *Eubacterium eligens*, *Faecalitalea*, *Barnesiella*) и снижением представленности комменсальных Firmicutes (*Blautia*, *Eubacterium hallii*, *Lachnospiraceae* FCS020).

3. Интенсивность инвазии *O. felineus* оказывает влияние на кишечную микробиоту, изменяя представленность бактерий на разных таксономических уровнях. Выявлена ассоциация с относительной численностью Desulfovibrionaceae (род *Desulfovibrio*), Erysipelotrichaceae, *Catenibacterium*, *Eubacterium coprostanoligenes*, *Senegalimassilia*, *Mitsuokella*, *Ruminococcaceae* UCG–003, *Enterorhabdus*, *Howardella*, *Olsenella*, *Moryella*, *Rikenellaceae* RC9 и отрицательная связь для Bifidobacteriaceae (род *Bifidobacterium*), *Akkermansia*, *Anaerostipes*, *Eubacterium hallii*, *Ruminococcus gnavus*, *Erysipelatoclostridium*, *Gordonibacter* в зависимости от интенсивности инвазии.

4. После дегельминтизации празиквантелом отмечается положительная

клиническая динамика в виде снижения частоты болевого синдрома (92 % против 40 %, $p < 0,01$), тошноты (52 % против 8 %, $p < 0,01$), зудящих кожных высыпаний (24 % против 6 %, $p < 0,01$), а также значимое снижение признаков патологических изменений желчного пузыря в сравнении с исходными результатами по результатам УЗИ (28 % и 42 %, соответственно, $p = 0,03$). Антигельминтная терапия через три месяца приводит к изменению представленности комменсальных Firmicutes и провоспалительных Proteobacteria до значений, сопоставимых с уровнем данных таксонов у детей, не страдающих инвазией, а также к изменению численности отдельных бутират–продуцирующих (снижению *Roseburia* и увеличению *Faecalibacterium*), снижению условно–патогенных бактерий (Synergistetes, Atopobiaceae и др.) и повышению некоторых потенциально провоспалительных бактерий (*Flavonifractor*, *Oscillibacter*, *Eisenbergiella*, *Varibaculum*). Изменения в некоторых микробиотических сообществах, выявленных у пациентов с инвазией, сохраняются в течение трех месяцев после дегельминтизации (*Barnesiella*, *Bacteroides*, *Faecalitalea*, группы *Eubacterium hallii* и *Eubacterium eligens*, *Lachnospiraceae* FCS020).

5. Клинически выраженная форма описторхоза с явлениями холепатии, ассоциирована с повышением представленности потенциально патогенных Staphylococcaceae, Pasteurellaceae, Holdemanella. Микробиота пациентов с латентной формой инвазии характеризуется более высоким содержанием *Methanobacteriaceae*, *Atopobiaceae*, *Senegalimassilia* в сравнении с другими формами. В образцах микробиоты пациентов с симптомами гастродуоденопатии выявлено повышение представленности *Lachnospiraceae* UCG–001.

6. Микробиота кишечника на фоне инвазии *O. felineus*, характеризуется увеличением представленности бактерий, ассоциированных с воспалительными заболеваниями гепатобилиарной системы и кишечника. Более высокая интенсивность инвазии связана с изменениями микробиоты, сопряженными с увеличением риска развития болезней пищеварительного тракта. Дегельминтизация приводит к снижению представленности бактерий, ассоциированных с развитием заболеваний гепатобилиарной системы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для планирования объемов медицинской помощи в эндемичных по описторхозу регионах следует учитывать, что распространенность инвазии *Opisthorchis felineus* составляет 11,6 % в популяции детей 7–10 лет, 23,8 % – у подростков, в структуре интенсивности инвазии у детей преобладает низкая интенсивность инвазии (93,3 %).
2. В связи с недостаточной осведомленностью детского населения о механизмах передачи инвазии *Opisthorchis felineus* и мерах профилактики необходимы разработка и внедрение образовательных программ для детей и подростков.
3. Сформированная база данных, содержащая метагеномные данные о составе микробиоты кишечника (DOI:10.5281/zenodo.4304728) может быть использована для научно– исследовательских и клинических задач.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

ИМТ – индекс массы тела

Гамма-ГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

ГБС – гепатобилиарная система

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

ОВП – общая врачебная практика

ОТЕ – операционная таксономическая единица

ИРК – индивидуальная регистрационная карта

УЗИ – ультразвуковое исследование

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ФАП – фельдшерско-акушерский пункт

ХНИЗ – хронические неинфекционные заболевания

16S рРНК – рибосомальная рибонуклеиновая кислота с константой седиментации

16 единиц Сведберга

ЭГДС – эзофагогастродуоденоскопия

O. felinus – *Opisthorchis felinus*

O. viverrini – *Opisthorchis viverrini*

OR – odds ratio – отношение шансов

CI – confidence interval – доверительный интервал

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ заболеваемости инвазией *Opisthorchis felineus* и злокачественными новообразованиями гепатобилиарной системы в Российской Федерации / О.С. Федорова, Ю.В. Ковширина, А.Е. Ковширина [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2016. – Том 15, N 5. – С. 147–158.
2. Арифуллина, К.В. Особенности течения хронического гастродуоденита у детей на фоне микроэлементных нарушений : дис. ... канд. мед. наук / К.В. Арифуллина. – Новосибирск, 2002. – 125 с.
3. Балашова, И.И. Особенности течения и терапии описторхоза у детей / И.И. Балашова, З.Г. Миронова. – Томск, 1990. – 152 с. – ISBN 5–7511–0242–8.
4. Беляева, М.И. Эколого–паразитологические и социальные особенности очагов описторхоза в Южных районах Тюменской области : дис. ... канд. биол. наук / М.И. Беляева. – Тюмень, 2002. – 160 с.
5. Бронштейн, А.М. Пораженность описторхозом и заболевания органов дуоденохоледохопанкреатической зоны и их соответствие с количественными параметрами выделения яиц *Opisthorchis felineus*. Сообщение 1. Заболеваемость описторхозом местного населения г. Ханты–Мансийск / А.М. Бронштейн // Медицинская паразитология. – 1985. – N 6. – С. 44–48.
6. Бронштейн, А.М. Сообщение 2. Заболеваемость описторхозом и дифиллоботриозом коренного населения пос. Кышик Ханты–Мансийского округа / А.М. Бронштейн // Медицинская паразитология. – 1986. –N 3.– С. 44–48.
7. Бронштейн, А.М. Сообщение 3. Заболеваемость описторхозом и дифиллоботриозом населения пос. Ванзетур Ханты–Мансийского округа. / А.М. Бронштейн // Медицинская паразитология. – 1986. –N 5.– С. 10–14.
8. Бронштейн, А.М. Сообщение 4. Анализ пораженности описторхозом пришлого населения в одном из эндемичных очагов Среднего Приобья / А.М. Бронштейн // Медицинская паразитология – 1987. – N 3. – С. 52–57.
9. Бычков, В.Г. Описторхоз в Обь–Иртышском бассейне (вопросы этиологии и

- патогенеза) / В.Г. Бычков, Г.Г. Крылов, А.О. Плотников // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2007. – N 4. – С. 3–5.
10. Влияние инвазии *Opisthorchis felineus* на иммунный ответ при бронхиальной астме / Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, А.Э. Сазонов [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2010. – N 3. – С. 85–90.
11. Глинская, О.Н. Клинико–функциональное состояние желудка и тонкой кишки у больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника в сочетании с хроническим описторхозом: дис. ... канд. мед. наук / О.Н. Глинская. – Томск, 2007. – 216 с.
12. ГОСТ Р 52379–2005. Надлежащая клиническая практика. – Введ. 2006–01–04. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200041147> (дата обращения: 31.03.2021).
13. Здоровье–2020: основы европейской политики и стратегия для XXI века / Всемирная организация здравоохранения. – 2013. – 225 с. – ISBN 978-92-890-0037-6.
14. Зиганшина, А.А. Баланс микробиоты кишечника ребенка – ключ к сохранению здоровья / А.А. Зиганшина, Н.В. Рылова // Педиатрия – 2019. – Том 98, N 6. – С. 134–139.
15. Исследование распределения гемозоина при инвазии *O. felineus* и оценка его роли в модификации микробиоты желчных протоков / И.В. Салтыкова, В.А. Петров, Ю.Б. Дорофеева [и др.] // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. – 2017. – N 4. – С. 70–78.
16. Ивашкин, В.Т. Микробиом человека в приложении к клинической практике / В.Т. Ивашкин, К.В. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2017. – Том 27, N 6. – С. 4–13.
17. Изучение распространенности аллергической патологии и описторхозной инвазии и их взаимосвязи у населения Томской области / Л.М. Огородова, М.Б. Фрейдин, А.Э. Сазонов [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – N 4. – С. 48–52.
18. Ильинских, Е.Н. Актуальные вопросы изучения описторхоза в Сибири / Е.Н. Ильинских // Бюллетень сибирской медицины. – 2002. – N 1. – С. 63–70.

19. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным описторхозом / Н.В. Гончар, С.С. Козлов // ФГБУ НИИДИ ФМБА России. – 2014. – 72 с. – URL: <http://niidi.ru/dotAsset/ebd00542-c9ea-438b-9dd9-389358028752.pdf> (дата обращения: 31.03.2021).
20. Кожевников, А.А. Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования / А.А. Кожевников // Российский медицинский журнал. – 2017. – Том 25, N 17. – С. 1244–1247.
21. Клеточный иммунный ответ у детей, страдающих бронхиальной астмой в сочетании с хронической описторхозной инвазией / О.В. Елисеева, Е.Э. Кремер, Л.М. Огородова [и др.] // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2011. – Том 3, N 2. – С. 15–19.
22. Калюжина, М.И. Состояние органов пищеварения у больных в резидуальный период хронического описторхоза: дис. ... д-ра мед. наук / М.И. Калюжина. – Томск, 2000. – 279 с.
23. Макарова, С.Г. Влияние различных факторов на ранние этапы формирования кишечной микробиоты / С.Г. Макарова, М.И. Броева // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Том 13, N 3. – С. 270–282.
24. Микробиота кишечника у детей: от профилактики нарушений становления к предупреждению неинфекционных заболеваний / Д.В. Печуров, Т.В. Турти, И.А. Беяева, А.А. Тяжева // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Том 13, N 4. – С. 377–383.
25. Молекулярные механизмы, опосредующие развитие холангиокарциномы в ходе хронической инвазии печеночными сосальщиками / А.О. Богданов, Д.В. Прокудина, А.Н. Байков, И.В. Салтыкова // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – N 6. – С. 83–90.
26. Мерзлова, Н.Б. Возрастные особенности нарушения функции билиарной системы при описторхозе и его лечение у детей в эндемичном очаге / Н.Б. Мерзлова // Медицинская паразитология. – 1982. – N 5. – С. 15–20.
27. Нарушение микробиоценоза кишечника у детей: методическое пособие / ред. А.И. Хавкин. – Москва, 2016. – 48 с.

28. О состоянии санитарно–эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад.– Москва : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.–220 с.
29. Обнаружение очага описторхоза на Юге Курганской области / С.А. Беэр, А.И. Чернышенко, М.М. Чиликин [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1980. – N 6. – С. 78–79.
30. Озерецковская, Н.Н. Органная патология в хронической стадии тканевых гельминтозов: роль эозинофилии крови и тканей, иммуноглобулинемии Е, G и факторов, индуцирующих иммунный ответ / Н.Н. Озерецковская // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. –2006. – N 4. – С.9–18.
31. Онищенко, С.В. Острый холангит у больных, проживающих в эндемическом очаге описторхоза / С.В. Онищенко, В.В. Дарвин, М.М. Лысак // Анналы хирургической гепатологии. – 2009. – N 2 – С. 38–43.
32. Особенности микробиоты кишечника у больных хронической обструктивной болезнью легких / Л.М. Огородова, В.М. Говорун, С.В. Федосенко [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Том 13, N 5. – С. 55–61.
33. Опыт сероэпидемиологического обследования очага описторхоза / О.Н. Бородина, А.М. Понамарева, Л.Л. Пуртова [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1983. – N 5. – С. 41–46.
34. Описторхоз в бассейне Верхней Камы / Е.А. Учуткин, В.Н. Канцан, Н.П. Ширяева [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1988. – N 6.–С. 59–61.
35. Опыт оздоровления детей в очагах описторхоза / М.М. Михайлов, В.Д. Завойкин, О.П. Зеля [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1998. – N 3. – С. 49–51.
36. Описторхозные абсцессы печени / В.Ф. Цхай, Н.А. Бражникова, Н.В. Мерзликин [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Том 10, N 3. – С. 129–134.
37. Педиатрия : национальное руководство : в 2 т. / ред. А.А. Баранов. – Москва :

ГЭОТАР–Медиа, 2009. – 2048 с. – ISBN 978–5–9704–1085–1.

38. Роль паразитарных инвазий в генезе воспалительных заболеваний билиарного тракта у детей / Л.А. Харитонова, Т.В. Кучеря, В.Р. Бостанджян [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. – Том 161, N 1. – С. 129–136.

39. Распространенность гельминтной инвазии *Opisthorchis felineus* у детей в Томске и Томской области / Л.М. Огородова, И.А. Деев, О.С. Федорова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Том 10, N 3. – С. 43–47.

40. Ситкин, С.И. Филометаболическое ядро микробиоты кишечника / С.И. Ситкин, Е.И. Ткаченко, Т.Я. Вахитов // Альманах клинической медицины. – 2015. – N 40. – С. 12–34.

41. Ситкин, С.И. Метаболом сыворотки крови и микробиота кишечника при язвенном колите и целиакии / С.И. Ситкин, Е.И. Ткаченко, Т.Я. Вахитов // Вестник Северо–Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2014. – Том 6, N 3. – С. 12–22.

42. Светлова, И.О. Влияние описторхисной инвазии на клинические проявления хронических воспалительных заболеваний кишечника / И.О. Светлова, Е.Ю. Валуйских // Бюллетень СО РАМН. – 2009 – Том 137, N 3. – С. 76–80.

43. Святенко, И.А. Особенности ультразвуковой картины патологии желчевыводящих путей в зависимости от длительности описторхозной инвазии / И.А. Святенко, Э.И. Белобородова, Л.А. Святенко // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – N 5. – С.128–131.

44. Святенко, И.А. Особенности гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у больных хроническим описторхозом: дис. ... канд. мед. наук / И.А. Святенко. – Томск, 2010. – 122 с.

45. Сравнительный анализ кишечной микробиоты при болезни Паркинсона и других неврологических заболеваниях / В.А. Петров, В.М. Алифирова, И.В. Салтыкова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2016. – Том 15, N 5. – С. 113–125.

46. Современное состояние детской гастроэнтерологии / А.М. Запруднов, Л.А. Харитонова, К.И. Григорьев [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2015. – N 2. – С. 6–13.
47. Суворова Е.В. Роль эозинофилов в иммунопатогенезе описторхоза: дис. ... канд. мед. наук / Е.В. Суворова. – Томск, 2007. – 137 с.
48. A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings / P. Hugon, J.C. Dufour, P. Colson [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2015. – Vol. 15, N 10. – P. 1211–1219. – DOI 10.1016/S1473-3099(15)00293-5.
49. Abt, M.C. The intestinal microbiota in health and disease: the influence of microbial products on immune cell homeostasis / M.C. Abt, D. Artis // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 25, N 6 – P. 496–502. – DOI 10.1097/MOG.0b013e328331b6b4.
50. Advanced periductal fibrosis from infection with the carcinogenic human liver fluke *Opisthorchis viverrini* correlates with elevated levels of interleukin-6 / B. Sripana, E. Mairiang, B. Thinkhamrop [et al.] // *Hepatology.* – 2009. – Vol. 50, N 4. – P. 1273–1281. – DOI 10.1002/hep.23134.
51. *Akkermansia muciniphila*-derived extracellular vesicles influence gut permeability through the regulation of tight junctions / C. Chelakkot, Y. Choi, D.K. Kim [et al.] // *Exp. Mol. Med.* – 2018. – Vol. 50, N 2. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29472701/> (Дата обращения 05.04.2021).
52. Allergic diseases and respiratory symptoms in urban and rural children in Grodno Region (Belarus) / A. Shpakou, G. Brożek, A. Stryzhak [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2012. – Vol. 23, N 4. – P. 339–346. – DOI 10.1111/j.1399-3038.2011.01263.x.
53. Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life / B. Björkstén, E. Sepp, K. Julge [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2001. – Vol. 108, N 4 – P. 516–520. – DOI 10.1067/mai.2001.118130.
54. Alteration of the murine gut microbiota during infection with the parasitic helminth *Heligmosomoides polygyrus* / S.T. Walk, A.M. Blum, S.A.–S. Ewing [et al.] // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2010. – Vol. 16, N 11. – P. 1841–1849.
55. Alterations in the porcine colon microbiota induced by the gastrointestinal nematode

- Trichuris suis / R.W. Li, S. Wu, W. Li [et al.] // Infect. Immun. – 2012. – Vol. 80, N 6. – P. 2150–2157. – DOI 10.1128/IAI.00141–12.
56. Alterations and correlations of the gut microbiome, metabolism and immunity in patients with primary biliary cirrhosis / L.X. Lv, D.Q. Fang, D. Shi [et al.] // Environ. Microbiol. – 2016. – Vol. 18, N 7. – P. 2272–2286. – DOI 10.1111/1462–2920.13401.
57. Altered gut microbiota and microbial biomarkers associated with chronic kidney disease / H. Lun, W. Yang, S. Zhao [et al.] // Microbiology. – 2019. – Vol. 8, N 4. – P. e00678. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30088332/> (Дата обращения 05.04.2021).
58. Altered gut microbiota composition in subjects infected with Clonorchis sinensis / M. Xu, Z. Jiang, W. Huang [et al.] // Front. Microbiol. – 2018. – Vol. 9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30323795/> (Дата обращения 07.04.2021).
59. American gut: an open platform for citizen science microbiome research / D. McDonald, E. Hyde, J.W. Debelius, B. Gunderson // mSystems – 2018. – Vol. 3, N 3. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29795809/> (Дата обращения 07.04.2021).
60. Anaerostipes caccae gen. nov., sp. nov., a new saccharolytic, acetate–utilising, butyrate–producing bacterium from human faeces / A. Schwartz, G.L. Hold, S.H. Duncan [et al.] // Syst. Appl. Microbiol. – 2002. – Vol. 25, N 1. – P. 46–51. – DOI 10.1078/0723–2020–00096.
61. Anti–inflammatory properties of intestinal Bifidobacterium strains isolated from healthy infants / E.V. Khokhlova, V.V. Smeianov, B.A. Efimov [et al.] // Microbiol. Immunol. – 2012. – Vol. 56, N 1. – P. 27–39. – DOI 10.1111/j.1348–0421.2011.00398.x.
62. Anti–inflammatory properties of the short–chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease / S. Tedelind, F. Westberg, M. Kjerrulf, A. Vidal // World J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13, N 20. – P. 2826.
63. Association between periductal fibrosis and bile duct dilatation among a population at high risk of cholangiocarcinoma: a cross–sectional study of cholangiocarcinoma screening in Northeast Thailand / N. Chamadol, N. Khuntikeo, B. Thinkhamrop [et al.] // BMJ Open. – 2019. – Vol. 9, N 3. – URL:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30898798/> (Дата обращения 05.04.2021).

64. Association of *Staphylococcus aureus* colonization with food allergy occurs independently of eczema severity / O. Tsilochristou, G. du Toit, P.H. Sayre, T. Mason // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2019. – Vol. 144, N 2. – P. 494–503.

65. Author Correction: Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 / E. Bolyen, J. R. Rideout, M. R. Dillon [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 37, N 9. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31399723/> (Дата обращения 05.04.2021).

66. *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces the expression of IL–8 and transforming growth factor–beta (TGF– β) by human colonic epithelial cells / L. Sanfilippo, C.K.F. Li, R. Seth [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2000. – Vol. 119, N 3. – P. 456–463. – DOI 10.1046/j.1365–2249.2000.01155.x.

67. Bacterial mucosa–associated microbiome in inflamed and proximal noninflamed ileum of patients with crohn’s disease / M. Olaisen, A. Flatberg, A.V.B. Granlund [et al.] // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2021. – Vol. 27, N 1. – P. 12–24. – DOI 10.1093/ibd/izaa107.

68. *Bacteroides fragilis* enterotoxin gene sequences in patients with inflammatory bowel disease / T.P. Prindiville, R.A. Sheikh, S.H. Cohen [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2000. – Vol. 6, N 2. – P. 171–174. – DOI 10.3201/eid0602.000210.

69. *Bacteroides ovatus* ATCC 8483 monotherapy is superior to traditional fecal transplant and multi–strain bacteriotherapy in a murine colitis model / F.D. Ihekweazu, T.Y. Fofanova, K. Queliza [et al.] // *Gut Microbes.* – 2019. – Vol. 10, N 4. – P. 504–520. – DOI 10.1080/19490976.2018.1560753.

70. Belkaid, Y. Role of the microbiota in immunity and inflammation / Y. Belkaid, T.W. Hand // *Cell.* – 2014. – Vol. 157, N 1 – P. 121–141. – DOI 10.1016/j.cell.2014.03.011.

71. Beneficial effects of microflora, especially obligate anaerobes, and their products on the colonic environment in inflammatory bowel disease / O. Kanauchi, Y. Matsumoto, M. Matsumura [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2005. – Vol. 11, N 8. – P.1047–1053.

72. Biliary microbiota, gallstone disease and infection with *Opisthorchis felineus* /

- I.V. Saltykova, V.A. Petrov, M.D. Logacheva [et al.] // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2016. – Vol. 10, N 7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27447938/> (Дата обращения 07.04.2021).
73. The burden of inflammatory bowel disease in Europe / J. Burisch, T. Jess, M. Martinato [et al.] // J. Crohn's Colitis. – 2013. – Vol. 7, N 4. – P. 322–337. – DOI 10.1016/j.crohns.2013.01.010.
74. Cano, P.G. *Bacteroides uniformis* CECT 7771 ameliorates metabolic and immunological dysfunction in mice with high-fat-diet induced obesity / P.G. Cano, A. Santacruz, Á. Moya, Y. Sanz // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, N 7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22844426/> (Дата обращения 06.04.2021).
75. Carcinogenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* is a reservoir for species of *Helicobacter* / R. Deenonpoe, C. Chomvarin, C. Pairojkul [et al.] // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2015. – Vol. 16, N 5 – P. 1751–1758. – DOI 10.7314/apjcp.2015.16.5.1751.
76. Characterization of the bile and gall bladder microbiota of healthy pigs / E. Jiménez, B. Sánchez, A. Farina [et al.] // Microbiologyopen. – 2014. – Vol. 3, N 6. – P. 937–949. – DOI 10.1002/mbo3.218.
77. Chang, P. V. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition / P. V. Chang, L. Hao, S. Offermanns, R. Medzhitov // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 2014. – T. 111, N 6 – P. 2247–2252. – DOI 10.1073/pnas.1322269111.
78. Changes in duodenal tissue-associated microbiota following hookworm infection and consecutive gluten challenges in humans with coeliac disease / P. Giacomini, M. Zakrzewski, T.P. Jenkins [et al.] // Sci. Rep. – 2016. – Vol. 6. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27827438/> (Дата обращения 06.04.2021).
79. Characterization of some Actinomyces-like isolates from human clinical sources: description of *Varibaculum cambriensis* gen. nov., sp. nov. / V. Hall, M.D. Collins, P.A. Lawson [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, N 2 – P. 640–644. – DOI 10.1128/jcm.41.2.640–644.2003.
80. Characterization of microbiota in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis with different disease severities / Y.Q. Dong, W. Wang, J. Li [et al.] // World J. Clin. Cases.

– 2019. – Vol. 7, N 18 – P. 2734–2745. – DOI 10.12998/wjcc.v7.i18.2734.

81. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis / Y. Chen, F. Yang, H. Lu [et al.] // *Hepatology*. – 2011. – Vol. 54, N 2 – P. 562–572. – DOI 10.1002/hep.24423.

82. Characterizing the composition of the pediatric gut microbiome: a systematic review / K.E. Deering, A. Devine, T.A. O’Sullivan [et al.] // *Nutrients*. – 2020. – Vol. 12, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31861722/> (Дата обращения 06.04.2021).

83. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora / N.D. Vaziri, J. Wong, M. Pahl [et al.] // *Kidney Int*. – 2013. – Vol. 83, N 2. – P. 308–315.

84. Chronic *Trichuris muris* infection decreases diversity of the intestinal microbiota and concomitantly increases the abundance of *Lactobacilli* / J.B. Holm, D. Sorobetea, P. Kiilerich [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10, N 5. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25942314/> (Дата обращения 06.04.2021).

85. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis / E. Varela, C. Manichanh, M. Gallart [et al.] // *Aliment. Pharmacol. Ther*. – 2013. – Vol. 38, N 2. – P. 151–161.

86. Commensal–pathogen interactions in the intestinal tract: Lactobacilli promote infection with, and are promoted by, helminth parasites / L.A. Reynolds, K.A. Smith, K.J. Filbey [et al.] // *Gut Microbes*. – 2014. – Vol. 5, N 4. – P. 522–532. – DOI 10.4161/gmic.32155.

87. Commensal bacteria can enter colonic epithelial cells and induce proinflammatory cytokine secretion: A possible pathogenic mechanism of ulcerative colitis / T. Ohkusa, T. Yoshida, N. Sato [et al.] // *J. Med. Microbiol*. – 2009. – Vol. 58, N 5. – P. 535–545.

88. Commensal bacteria protect against food allergen sensitization / A.T. Stefka, T. Feehley, P. Tripathi [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci*. – 2014. – Vol. 111, N 36. – P. 13145–13150.

89. Commensal microbe–derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells / Y. Furusawa, Y. Obata, S. Fukuda [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol. 504, N 7480. – P. 446–450. – DOI 10.1038/nature12721.

90. Community deworming alleviates geohelminth–induced immune

- hyporesponsiveness / L.J. Wammes, F. Hamid, A.E. Wiria [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2016. – Vol. 113, N 44. – P. 12526–12531.
91. Helminth therapy or elimination : epidemiological, immunological, and clinical considerations / L. J. Wammes, H. Mpairwe, A. M. Elliott, M. Yazdanbakhsh // Lancet Infect. Dis. – 2014. – Vol. 14, N 11. – P. 1150–1162.
92. Comprehensive analysis of the faecal microbiome and metabolome of *Strongyloides stercoralis* infected volunteers from a non–endemic area / T.P. Jenkins, F. Formenti, C. Castro [et al.] // Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30353019/> (Дата обращения 07.04.2021).
93. Comparison of the gut microbe profiles and numbers between patients with liver cirrhosis and healthy individuals / J. Liu, D. Wu, A. Ahmed [et al.] // Curr. Microbiol. – 2012. – Vol. 65, N 1. – P. 7–13. – DOI 10.1007/s00284–012–0105–8.
94. Comprehensive genome analyses of *Sellimonas intestinalis*, a potential biomarker of homeostasis gut recovery 2 / M. Muñoz, E. Guerrero–Araya, C. Cortés–Tapia [et al.] // Microb Genom. – 2020. – Vol. 6, N 12. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33206037/> (Дата обращения 07.04.2021).
95. Dahmus, J.D. The gut microbiome and colorectal cancer: A review of bacterial pathogenesis / J.D. Dahmus, D.L. Kotler, D.M. Kastenberg, C.A. Kistler // J. Gastrointest. Oncol. – 2018. – Vol. 9, N 4. – P. 769–777. – DOI 10.21037/jgo.2018.04.07.
96. Decrease of the butyrate–producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis / K. Machiels, M. Joossens, J. Sabino [et al.] // Gut. – 2014. – Vol. 63, N 8. – P. 1275–1283. – DOI 10.1136/gutjnl–2013–304833.
97. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section / H.E. Jakobsson, T.R. Abrahamsson, M.C. Jenmalm [et al.] // Gut – 2014. – Vol. 63, N 4. – P. 559–566. – DOI 10.1136/gutjnl–2012–303249.
98. Decreased abundance of *Faecalibacterium prausnitzii* in the gut microbiota of Crohn’s disease / T. Fujimoto, H. Imaeda, K. Takahashi [et al.] // J. Gastroenterol.

- Hepatol. – 2013. – Vol. 28, N 4. – P. 613–619. – DOI 10.1111/jgh.12073.
99. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns / M.G. Dominguez–Bello, E.K. Costello, M. Contreras [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2010. – Vol. 107, N 26 – P. 11971–11975. – DOI 10.1073/pnas.1002601107.
100. Desulfovibrio desulfuricans bacteremia: a case report and literature review / H. Hagiya, K. Kimura, I. Nishi [et al.] // Anaerobe. – 2018. – Vol. 49 – P. 112–115. – DOI 10.1016/j.anaerobe.2017.12.013.
101. Development of an analysis pipeline characterizing multiple hypervariable regions of 16S rRNA using mock samples / J. J. Barb, A. J. Oler, H. S. Kim [et al.] // PLoS One – 2016. – Vol. 11, N 2. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26829716/> (Дата обращения 05.04.2021).
102. Diet, environments, and gut microbiota. A preliminary investigation in children living in rural and urban Burkina Faso and Italy / C.D. Filippo, M.D. Paola, M. Ramazzotti [et al.] // Front. Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29081768/> (Дата обращения 06.04.2021).
103. Dietary factors and modulation of bacteria strains of Akkermansia muciniphila and Faecalibacterium prausnitzii: a systematic review / S. Verhoog, P.E. Taneri, Z.M. Roa Díaz [et al.] // Nutrients. – 2019. – Vol. 11, N 7. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6683038/> (Дата обращения 07.04.2021).
104. Differences in the faecal microbiome in Schistosoma haematobium infected children vs. uninfected children / G.L. Kay, A. Millard, M.J. Sergeant [et al.] // PLoS Negl. Trop. Dis. – 2015. – Vol. 9, N 6. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26114287/> (Дата обращения 07.04.2021).
105. Differences between tissue–associated intestinal microfloras of patients with Crohn’s disease and ulcerative colitis / U. Gophna, K. Sommerfeld, S. Gophna [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2006. – Vol. 44 – N 11 – P. 4136–4141. – DOI 10.1128/JCM.01004–06.
106. Differential human gut microbiome assemblages during soil–transmitted helminth

infections in Indonesia and Liberia / B.A. Rosa, T. Supali, L. Gankpala [et al.] // *Microbiome*. – 2018. – Vol. 6, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29486796/> (Дата обращения 07.04.2021).

107. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut / A. Suau, R. Bonnet, M. Sutren [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1999. – Vol. 65, N 11. – P. 4799–4807.

108. Discerning the role of *Bacteroides fragilis* in celiac disease pathogenesis / E. Sánchez, J.M. Laparra, Y. Sanz // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2012. – Vol. 78, N 18. – P. 6507–6515. – DOI 10.1128/AEM.00563–12.

109. Duodenal–mucosal bacteria associated with celiac disease in children / E. Sánchez, E. Donat, C. Ribes–Koninckx [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2013. – Vol. 79, N 18. – P. 5472–5479. – DOI 10.1128/AEM.00869–13.

110. Dynamic changes in human–gut microbiome in relation to a placebo–controlled anthelmintic trial in Indonesia / I. Martin, Y. Djuardi, E. Sartono [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2018. – Vol. 12, N 8. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30091979/> (Дата обращения 07.04.2021).

111. Dysbiosis of small intestinal microbiota in liver cirrhosis and its association with etiology / Y. Chen, F. Ji, J. Guo [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27687977/> (Дата обращения 06.04.2021).

112. Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization / T. Herbst, A. Sichelstiel, C. Schär [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 184, N 2. – P. 198–205. – DOI 10.1164/rccm.201010–1574OC.

113. East–West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe: The ECCO–EpiCom inception cohort / J. Burisch, N. Pedersen, S. Čuković–Čavka [et al.] // *Gut*. – 2014. – Vol. 63, N 4 – P. 588–597. – DOI 10.1136/gutjnl–2013–304636.

114. Efficacy and safety of praziquantel against light infections of *Opisthorchis viverrini*: a randomized parallel single–blind dose–ranging trial / S. Sayasone, I. Meister, J.R. Andrews [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2017. – Vol. 64, N 4. – P. 451–458. – DOI 10.1093/cid/ciw785.

115. Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mekongi* and *Opisthorchis viverrini*:

- a randomized, single-blinded dose-comparison trial / L. Lovis, T.K. Mak, K. Phongluxa [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2012. – Vol. 6, N 7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22848766/> (Дата обращения 07.04.2021).
116. Elevated prevalence of *Helicobacter* species and virulence factors in opisthorchiasis and associated hepatobiliary disease / R. Deenonpoe, E. Mairiang, P. Mairiang [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28198451/> (Дата обращения 06.04.2021).
117. Elevated plasma IL-6 associates with increased risk of advanced fibrosis and cholangiocarcinoma in individuals infected by *Opisthorchis viverrini* / B. Sripa, B. Thinkhamrop, E. Mairiang [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2012. – Vol. 6, N 5. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22629477/> (Дата обращения 07.04.2021).
118. Emigration to western industrialized countries: a risk factor for developing inflammatory bowel disease / M. Barreiro-de Acosta, A. Alvarez Castro, R. Souto [et al.] // *J. Crohn's Colitis.* – 2011. – Vol. 5, N 6. – P. 566–569. – DOI 10.1016/j.crohns.2011.05.009.
119. Enterotypes of the human gut microbiome / M. Arumugam, J. Raes, E. Pelletier [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 473, N 7346. – P. 174–180. – DOI 10.1038/nature09944.
120. Enteric helminths promote *Salmonella* coinfection by altering the intestinal metabolome / L.A. Reynolds, S.A. Redpath, S. Yurist-Doutsch [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2017. – Vol. 215, N 8. – P.1245–1254. – DOI 10.1093/infdis/jix141.
121. Enterobacterial tumor colonization in mice depends on bacterial metabolism and macrophages but is independent of chemotaxis and motility / J. Stritzker, S. Weibel, C. Seubert [et al.] // *Int. J. Med. Microbiol.* – 2010. – Vol. 300, N 7. – P. 449–456.
122. *Enterorhabdus caecimuris* sp. nov., a member of the family Coriobacteriaceae isolated from a mouse model of spontaneous colitis, and emended description of the genus *Enterorhabdus* / T. Clavel, W. Duck, C. Charrier [et al.] // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2010. – Vol. 60, N 7. – P. 1527–1531. – DOI 10.1099/ijs.0.015016-0.
123. Experimental hookworm infection and gluten microchallenge promote tolerance in celiac disease / J. Croese, P. Giacomini, S. Navarro [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2015. – Vol. 135, N 2 – P. 508–516. – DOI 10.1016/j.jaci.2014.07.022.

124. Exposure to schistosome eggs protects mice from TNBS-induced colitis / D.E. Elliott, J. Li, A. Blum [et al.] // *Am. J. Physiol. Liver Physiol.* – 2003. – Vol. 284, N 3 – P. 385–391. – DOI 10.1152/ajpgi.00049.2002.
125. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients / H. Sokol, B. Pigneur, L. Watterlot [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2008. – Vol. 105, N 43. – P. 16731–16736. – DOI 10.1073/pnas.0804812105.
126. Faria, A.M.C. Oral tolerance / A.M.C. Faria, H.L. Weiner // *Immunol. Rev.* – 2005. – Vol. 206, N 1. – P. 232–259. – DOI 10.1111/j.0105–2896.2005.00280.x.
127. Feary, J. Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis / J. Feary, J. Britton, J. Leonardi-Bee // *Allergy.* – 2011. – Vol. 66, N 4. – P. 569–578. – DOI 10.1111/j.1398–9995.2010.02512.x.
128. Fecal microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology: a systematic review / N.G. Rossen, J.K. MacDonald, E.M. de Vries [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 21, N 17. – P. 5359–5371. – DOI 10.3748/wjg.v21.i17.5359.
129. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis / B. Eiseman, W. Silen, G.S. Bascom, A.J. Kauvar // *Surgery.* – 1958. – Vol. 44, N 5. – P. 854–859. – PMID 13592638.
130. Differences in fecal microflora between patients with atopic dermatitis and healthy control subjects / S. Watanabe, Y. Narisawa, S. Arase [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111, N 3. – P. 587–591.
131. Opisthorchis felineus infection, risks, and morbidity in rural Western Siberia, Russian Federation / O.S. Fedorova, M.M. Fedotova, O.I. Zvonareva [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2020. – Vol. 14, N 6. – P. 1–24. – DOI 10.1371/journal.pntd.0008421.
132. Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age / D. Mariat, O. Firmesse, F. Levenez [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2009. – Vol. 9, N 123. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19508720/> (Дата обращения 07.04.2021).
133. Fleming, J.O. Multiple sclerosis and the hygiene hypothesis / J.O. Fleming, T.D. Cook // *Neurology.* – 2006. – Vol. 67, N 11 – P. 2085–2086. – DOI

10.1212/01.wnl.0000247663.40297.2d.

134. Flynn, M.J. *Mitsuokella dentalis* in human periodontitis / M.J. Flynn, G. Li, J. Slots // *Oral Microbiol. Immunol.* – 1994. – Vol. 9, N 4. – P. 248–250. – DOI 10.1111/j.1399–302x.1994.tb00066.x.

135. Forouzanfar, M.H. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 / M.H. Forouzanfar, A. Afshin, L.T. Alexander, C.J.L. Murray // *Lancet.* – 2016. – Vol. 388 – N 10053. – P. 1659–1724. – DOI 10.1016/S0140–6736(16)31679–8.

136. Four cases of bacteremia caused by *Oscillibacter ruminantium*, a newly described species / T.V. Sydenham, M. Arpi, K. Klein, U.S. Justesen // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 4. – P.1304–1307.

137. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor–immune microenvironment / A.D. Kostic, E. Chun, L. Robertson [et al.] // *Cell Host Microbe.* – 2013. – Vol. 14, N 2. – P. 207–215. – DOI 10.1016/j.chom.2013.07.007.

138. Genetic diversity of *Escherichia coli* in gut microbiota of patients with Crohn's disease discovered using metagenomic and genomic analyses / A.V. Tyakht, A.I. Manolov, A.V. Kanygina [et al.] // *BMC Genomics.* – 2018. – Vol. 19, N 1. – P. 968.

139. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma / A.D. Kostic, D. Gevers, C.S. Peadarallu [et al.] // *Genome Res.* – 2012. – Vol. 22, N 2. – P. 292–298. – DOI 10.1101/gr.126573.111.

140. Ghoshal, U. Irritable bowel syndrome, particularly the constipation–predominant form, involves an increase in *Methanobrevibacter smithii*, which is associated with higher methane production / U. Ghoshal, R. Shukla, D. Srivastava, U.C. Ghoshal // *Gut Liver* – 2016. – Vol. 10, N 6 – P. 932–938. – DOI 10.5009/gnl15588.

141. Global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases / P.J. Hotez, M. Alvarado, M.G. Basáñez [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2014. – Vol. 8, N 7. – URL:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25058013/> (Дата обращения 06.04.2021).

142. Gut microbiota dysbiosis and bacterial community assembly associated with cholesterol gallstones in large-scale study / T. Wu, Z. Zhang, B. Liu [et al.] // *BMC Genomics*. – 2013. – Vol. 14, N 1. – P. 669.

143. Gut microbiome associates with lifetime cardiovascular disease risk profile among bogalusa heart study participants / T.N. Kelly, L.A. Bazzano, N.J. Ajami [et al.] // *Circ. Res.* – 2016. – Vol. 119, N 8. – P. 956–964. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.116.309219.

144. Gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid / M.C. Collado, S. Rautava, J. Aakko [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6 – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27001291/> (Дата обращения 07.04.2021).

145. Gut microbial profile in patients with primary sclerosing cholangitis is distinct from patients with ulcerative colitis without biliary disease and healthy controls / M. Kummen, K. Holm, J.A. Anmarkrud [et al.] // *Gut*. – 2017. – Vol. 66, N 4. – P. 611–619. – DOI 10.1136/gutjnl-2015-310500.

146. Haemophilus parainfluenzae liver abscess after successful liver transplantation / J. Fried, A. Stift, G.A. Berlakovich [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 1998. – Vol. 36, N 3. – P. 818–819.

147. Hamady, M. Microbial community profiling for human microbiome projects: tools, techniques, and challenges / M. Hamady, R. Knight // *Genome Res.* – 2009. – Vol. 19, N 7. – P.1141–1152. – DOI 10.1101/gr.085464.108.

148. Helicobacter pylori in Thai patients with cholangiocarcinoma and its association with biliary inflammation and proliferation / W. Boonyanugomol, C. Chomvarin, B. Sriipa [et al.] // *HPB*. – 2012. – Vol. 14, N 3 – P.177–184. – DOI 10.1111/j.1477-2574.2011.004.

149. Helminths and the IBD hygiene hypothesis / J.V. Weinstock, D.E. Elliott // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2009. – Vol. 15, N 1. – P. 128–133.

150. Helminth infection promotes colonization resistance via type 2 immunity / D. Ramanan, R. Bowcutt, S.C. Lee [et al.] // *Science*. – 2016. – Vol. 352, N 6285. – P.

608–612. – DOI 10.1126/science.aaf3229.

151. Helminth colonization is associated with increased diversity of the gut microbiota / S.C. Lee, M.S. Tang, Y.A.L. Lim [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2014. – Vol. 8, N 5. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24851867/> (Дата обращения 07.04.2021).

152. HLA–DQ2 genotype selects for early intestinal microbiota composition in infants at high risk of developing coeliac disease / M. Olivares, A. Neef, G. Castillejo [et al.] // *Gut.* – 2015. – Vol. 64, N 3. – P. 406–417. – DOI 10.1136/gutjnl–2014–306931.

153. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia / A.V. Tyakht, E.S. Kostyukova, A.S. Popenko [et al.] // *Nat. Commun.* – 2013. – Vol. 4. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3778515/> (Дата обращения 07.04.2021).

154. Human gut microbiome viewed across age and geography / T. Yatsunenko, F.E. Rey, M.J. Manary [et al.] // *Nature.* – 2012. – Vol. 486, N 7402. – P. 222–227.

155. Hussan, H. Fusobacterium’s link to colorectal neoplasia sequenced: a systematic review and future insights / H. Hussan, S.K. Clinton, K. Roberts, M.T. Bailey // *World J. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, N 48. – P. 8626–8650. – DOI 10.3748/wjg.v23.i48.862.

156. Identifying gut microbiota associated with colorectal cancer using a zero–inflated lognormal model / D. Ai, H. Pan, X. Li [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2019. – Vol. 10. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6491826/> (Дата обращения 05.04.2021).

157. Imbalance Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease / I. Nadal, E. Donant, C. Ribes–Koninckx [et al.] // *J. Med. Microbiol.* – 2007. – Vol. 56, N 12. – P. 1669–1674. – DOI 10.1099/jmm.0.47410–0.

158. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa / C.D. Filippo, D. Cavalieri, M.D. Paola [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2010. – Vol. 107, N 33 – P. 14691–14696. – DOI 10.1073/pnas.1005963107.

159. Impact of *Enterobius vermicularis* infection and mebendazole treatment on intestinal microbiota and host immune response / C.–A. Yang, C. Liang, C.–L. Lin [et

al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2017. – Vol. 11, N 9. – P. e0005963.

160. Impact of anthelmintic treatment on human gut microbiota based on cross-sectional and pre- and postdeworming comparisons in Western Kenya / A.V. Easton, M. Quiñones, I. Vujkovic-Cvijin [et al.] // *MBio.* – 2019. – Vol. 10, N 2. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31015324/> (Дата обращения 06.04.2021).

161. Increased prevalence of pathogenic bacteria in the gut microbiota of infants at risk of developing celiac disease: The PROFICEL study / M. Olivares, A. Benítez-Páez, G. de Palma [et al.] // *Gut Microbes.* – 2018. – Vol. 9, N 6. – P. 551–558. – DOI 10.1080/19490976.2018.1451276.

162. Increasing Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review / N.A. Molodecky, I.S. Soon, D.M. Rabi [et al.] // *Gastroenterology.* – 2012. – Vol. 142, N 1. – P. 46–54. – DOI 10.1053/j.gastro.2011.10.001.

163. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study / S. Scrivener, H. Yemaneberhan, M. Zebenigus [et al.] // *Lancet (London, England).* – 2001. – Vol. 358, N 9292. – P. 1493–1499. – DOI 10.1016/S0140-6736(01)06579-5.

164. Infant gut microbiota is protective against cow's milk allergy in mice despite immature ileal T-cell response / B. Rodriguez, G. Prioult, F. Hacini-Rachinel [et al.] // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2012. – Vol. 79, N 1. – P. 192–202. – DOI 10.1111/j.1574-6941.

165. Infection with *Opisthorchis felinus* induces intraepithelial neoplasia of the biliary tract in a rodent model / M.J. Gouveia, M.Y. Pakharukova, T. Laha [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2017. – Vol. 38, N 9 – P. 929–937. – DOI 10.1093/carcin/bgx042.

166. Influencing factors for cure of clonorchiasis by praziquantel therapy: infection burden and CYP3A5 gene polymorphism / C.H. Kim, J.K. Lee, B.S. Chung [et al.] // *Korean J. Parasitol.* – 2011. – Vol. 49, N 1. – P. 45–49. – DOI 10.3347/kjp.2011.49.1.45.

167. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice / C. Zhang, M. Zhang, S. Wang [et al.] //

ISME J. – 2010. – Vol. 4, N 2. – P. 232–241.

168. Interactions between multiple helminths and the gut microbiota in wild rodents / J. Kreisinger, G. Bastien, H.C. Hauffe [et al.] // *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* – 2015. – Vol. 370, N 1675. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26150661/> (Дата обращения 07.04.2021).

169. Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease / F. Imhann, A.V. Vila, M.J. Bonder [et al.] // *Gut*. – 2018. – Vol. 67, N 1. – P. 108–119. – DOI 10.1136/gutjnl-2016-312135.

170. Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children / G.D. Palma, I. Nadal, M. Medina [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2010. – Vol. 10, N 1. – P. 63.

171. Intestinal microbiota was assessed in cirrhotic patients with hepatitis B virus infection. Intestinal microbiota of HBV cirrhotic patients / H. Lu, Z. Wu, W. Xu [et al.] // *Microb. Ecol.* – 2011. – Vol. 61, N 3. – P. 693–703. – DOI 10.1007/s00248-010-9801-8.

172. Intestinal dysbiosis and probiotic applications in autoimmune diseases / G.L.V. de Oliveira, A.Z. Leite, B.S. Higuchi [et al.] // *Immunology*. – 2017. – Vol. 152, N 1. – P. 1–12. – DOI 10.1111/imm.12765.

173. Intestinal nematode infection ameliorates experimental colitis in mice / W.I. Khan, P.A. Blennerhasset, A.K. Varghese [et al.] // *Infect. Immun.* – 2002. – Vol. 70, N 11. – P. 5931–5937. – DOI 10.1128/iai.70.11.5931-5937.2002.

174. Intestinal *Bacteroides* species associated with coeliac disease / E. Sanchez, E. Donat, C. Ribes-Koninckx // *J. Clin. Pathol.* – 2010. – Vol. 63, N 12. – P. 1105–1111. – DOI 10.1136/jcp.2010.076950.

175. Intestinal microbiota contributes to the ability of helminths to modulate allergic inflammation / M.M. Zaiss, A. Rapin, L. Lebon [et al.] // *Immunity* – 2015. – Vol. 43, N 5. – P. 998.

176. Invasive potential of gut mucosa-derived fusobacterium nucleatum positively correlates with IBD status of the host / J. Strauss, G.G. Kaplan, P.L. Beck [et al.] // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2011. – Vol. 17, N 9. – P. 1971–1978.

177. Investigations on the interplays between *Schistosoma mansoni*, praziquantel and the gut microbiome / P.H.H. Schneeberger, J.T. Coulibaly, G. Panic [et al.] // *Parasit. Vectors.* – 2018. – Vol. 11, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29530088/> (Дата обращения 07.04.2021).
178. Infection with the carcinogenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* modifies intestinal and biliary microbiome / J.L. Plieskatt, R. Deenonpoe, J.P. Mulvenna [et al.] // *FASEB J.* – 2013. – Vol. 27, N 11. – P. 4572–4584. – DOI 10.1096/fj.13–232751.
179. Isolation of anti-inflammatory and epithelium reinforcing bacteroides and parabacteroides spp. from a healthy fecal donor / K. Hiippala, V. Kainulainen, M. Suutarinen [et al.] // *Nutrients* – 2020. – Vol. 12, N 4. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32230951/> (Дата обращения 06.04.2021).
180. Jahns, L. Obesity, diet, and poverty : Trends in the Russian transition to market economy / L. Jahns, A. Baturin, B.M. Popkin // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2003. – Vol. 57, N 10. – P. 1295–1302. – DOI 10.1038/sj.ejcn.1601691.
181. Kaakoush, N.O. Insights into the role of Erysipelotrichaceae in the human host / N.O. Kaakoush // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2015. – Vol. 5. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26636046/> (Дата обращения 05.04.2021).
182. Kaplan, G.G. Understanding and preventing the global increase of inflammatory bowel disease / G.G. Kaplan, S.C. Ng // *Gastroenterology.* – 2017. – Vol. 152, N 2. – P. 313–321. – DOI 10.1053/j.gastro.2016.10.020.
183. Kuitunen, M. Probiotics and prebiotics in preventing food allergy and eczema / M. Kuitunen // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 13, N 3. – P. 280–286. – DOI 10.1097/ACI.0b013e328360ed66.
184. Kumari, R. Fluctuations in butyrate-producing bacteria in ulcerative colitis patients of North India / R. Kumari, V. Ahuja, J. Paul // *World J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19, N 22. – P. 3404–3414. – DOI 10.3748/wjg.v19.i22.3404.
185. Lederberg, J. Infectious History / J. Lederberg // *Science.* – 2000. – Vol. 288, N 5464. – P. 287–293. – DOI 10.1126/science.288.5464.287.
186. Leonardi-Bee, J. Asthma and Current Intestinal Parasite Infection / J. Leonardi Bee, D. Pritchard, J. Britton // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. – Vol.

- 174, N 5. – P. 514–523. – DOI 10.1164/rccm.200603–331OC.
187. Life by the river: neglected worm infection in Western Siberia and pitfalls of a one–size–fits–all control approach / O. Zvonareva, P. Odermatt, E. A. Golovach [et al.] // *Crit. Public Health*. – 2018. – Vol. 28, N 5. – P. 534–545. – DOI 10.1080/09581596.2.
188. Long–term stability of the human gut microbiota / J.J. Faith, J.L. Guruge, M. Charbonneau [et al.] // *Science*. – 2013. – Vol. 341, N 6141. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23828941/> (Дата обращения 06.04.2021).
189. Louis, P. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate–producing bacteria from the human large intestine / P. Louis, H.J. Flint // *FEMS Microbiol Lett*. – 2009. – Vol. 294, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19222573/> (Дата обращения 07.04.2021).
190. Low Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age / T.R. Abrahamsson, H.E. Jakobsson, A.F. Andersson [et al.] // *Clin. Exp. Allergy*. – 2014. – Vol. 44, N 6 – P. 842–850. – DOI 10.1111/cea.12253.
191. Machicado, C. Carcinogenesis associated with parasites other than *Schistosoma*, *Opisthorchis* and *Clonorchis*: a systematic review / C. Machicado, L.A. Marcos // *Int. J. Cancer*. – 2016. – Vol. 138, N 12. – P. 2915–2921. – DOI 10.1002/ijc.30028.
192. Maizels, R.M. Modulation of host immunity by helminths: the expanding repertoire of parasite effector molecules / R.M. Maizels, H.H. Smits, H.J. McSorley // *Immunity*. – 2018. – Vol. 49, N 5. – P. 801–818. – DOI 10.1016/j.immuni.2018.10.016.
193. Maizels, R.M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms / R.M. Maizels, M. Yazdanbakhsh // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3, N 9. – P. 733–744. – DOI 10.1038/nri1183.
194. Maizels, R.M. Infections and allergy – helminths, hygiene and host immune regulation / R.M. Maizels // *Curr. Opin. Immunol.* – 2005. – Vol. 17, N 6. – P. 656–661. – DOI 10.1016/j.coi.2005.09.001.
195. Maslowski, K.M. Diet, gut microbiota and immune responses / K.M. Maslowski, C.R. Mackay // *Nat. Immunol.* – 2011. – Vol. 12, N 1. – P. 5–9. – DOI 10.1038/ni0111–5.
196. Maturation of the gut microbiome and risk of asthma in childhood / J. Stokholm,

- M.J. Blaser, J. Thorsen [et al.] // *Nat. Commun.* – 2018. – Vol. 9, N 1. – P. 141.
197. McCracken, B.A. Phylum Synergistetes in the oral cavity: a possible contributor to periodontal disease / B.A. McCracken, M.N. Garcia // *Anaerobe.* – 2020. – Vol. 102250. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32791127/> (Дата обращения 07.04.2021).
198. McSorley, H.J. Helminth infections and host immune regulation / H.J. McSorley, R.M. Maizels // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2012. – Vol. 25, N 4. – P. 585–608. – DOI 10.1128/CMR.05040–11.
199. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth / A.N. Ardisson, D.M. de la Cruz, A.G. Davis–Richardson [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 3 – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3948723/> (Дата обращения 07.04.2021).
200. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants / M.J. Gosalbes, S. Llop, Y. Vallès [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* – 2013. – Vol. 43, N 2 – P. 198–211. – DOI 10.1128/JCM.01004–06.
201. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T–cell generation / N. Arpaia, C. Campbell, X. Fan [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 504, N 7480. – P. 451–455. – DOI 10.1038/nature12726./ N. Arpaia, C. Campbell, X. Fan [et al.] // *Nature.* – 2013. – Vol. 504, N 7480. – P. 451–455. – DOI 10.1038/nature12726.
202. Metagenomic sequencing of bile from gallstone patients to identify different microbial community patterns and novel biliary bacteria / H. Shen, F. Ye, L. Xie [et al.] // *Sci. Rep.* – 2015. – Vol. 5, N 1. – DOI 10.1038/srep17450.
203. Metatranscriptomic analysis to define the secrebiome, and 16S rRNA profiling of the gut microbiome in obesity and metabolic syndrome of Mexican children / L. Gallardo–Becerra, F. Cornejo–Granados, R. García–López [et al.] // *Microb. Cell Fact.* – 2020. – Vol. 19, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32143621/> (Дата обращения 06.04.2021).
204. Methé, B.A. A framework for human microbiome research / B.A. Methé, K.E. Nelson, M. Pop, O. White // *Nature.* – 2012. – Vol. 486, N 7402. – P. 215–221. –

DOI 10.1038/nature11209.

205. Microbiome responses to an uncontrolled short-term diet intervention in the frame of the citizen science project / N.S. Klimenko, A.V. Tyakht, A.S. Popenko [et al.] // *Nutrients* – 2018. – Vol. 10, N 5. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21461268/> (Дата обращения 07.04.2021).

206. Microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon / D.R. Donohoe, N. Garge, X. Zhang [et al.] // *Cell Metab.* – 2011. – Vol. 13, N 5 – P. 517–526. – DOI 10.1016/j.cmet.2011.02.018.

207. Microbiota studies in the bile duct strongly suggest a role for *Helicobacter pylori* in extrahepatic cholangiocarcinoma / F. Avilés-Jiménez, A. Guitron, F. Segura-López [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2016. – Vol. 22, N 2. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26493848/> (Дата обращения 05.04.2021).

208. Microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease / A. Nishida, R. Inoue, O. Inatomi [et al.] // *Clin. J. Gastroenterol.* – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 1–10. – DOI 10.1007/s12328-017-0813-5.

209. Microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study / J. Penders, C. Thijs, P.A. van den Brandt [et al.] // *Gut* – 2007. – Vol. 56, N 5. – P. 661–667. – DOI 10.1136/gut.2006.100164.

210. Molecular characterization of the fecal microbiota in patients with nonalcoholic steatohepatitis – a longitudinal study / V.W.S. Wong, C.H. Tse, T.T.Y. Lam [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 4. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23638162/> (Дата обращения 07.04.2021).

211. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases / D.N. Frank, A.L.S. Amand, R.A. Feldman [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2007. – Vol. 104, N 34. – P. 13780–13785. – DOI 10.1073/pnas.0706625104.

212. Neglected tropical diseases of latin america and the caribbean: a review of disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination / P.J. Hotez, M.E. Bottazzi, C. Franco-Paredes [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2008. – Vol. 2, N 9. – P. e300. – DOI 10.1371/journal.pntd.0000300.

213. Novel pathogens in periodontal microbiology / K.V. Hiranmayi, K. Sirisha, M.V. Ramoji Rao, P. Sudhakar // *J. Pharm. Bioallied Sci.* – 2017. – Vol. 9, N 3. – P. 155–163. – DOI 10.4103/jpbs.JPBS_288_16.
214. O’Hara, A.M. The gut flora as a forgotten organ / A. M. O’Hara, F. Shanahan // *EMBO Rep.* – 2006. – Vol. 7, N 7. – P. 688–693. – DOI 10.1038/sj.embor.7400731.
215. Alterations of gut microbiome in autoimmune hepatitis / Y. Wei, Y. Li, L. Yan [et al.] // *Gut.* – 2020. – Vol. 69, N 3. – P. 569–577.
216. Case of liver abscess co-infected with *Desulfovibrio desulfuricans* and *Escherichia coli* and review of the literature / T. Yamazaki, S. Joshita, E. Kasuga [et al.] // *J. Infect. Chemother.* – 2018. – Vol. 24, N 5. – P. 393–397.
217. Off-target effects of tribendimidine, tribendimidine plus ivermectin, tribendimidine plus oxantel-pamoate, and albendazole plus oxantel-pamoate on the human gut microbiota / P.H.H. Schneeberger, J.T. Coulibaly, M. Gueuning [et al.] // *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* – 2018. – Vol. 8, N 3. – P. 372–378. – DOI 10.1016/j.ijpddr.2018.07.001.
218. *Opisthorchis felinus* infection and cholangiocarcinoma in the Russian Federation: A review of medical statistics / O.S. Fedorova, Y.V. Kovshirina, A.E. Kovshirina [et al.] // *Parasitol. Int.* – 2017. – Vol. 66, N 4 – P. 365–371. – DOI 10.1016/j.parint.2016.
219. *Opisthorchis viverrini* infection changes the liver microbiome and promotes helicobacter growth / U. Itthitaetrakool, P. Pinlaor, S. Pinlaor [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, N 11. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27806126/> (Дата обращения 07.04.2021).
220. *Opisthorchis felinus* negatively associates with skin test reactivity in Russia—EuroPrevall–International Cooperation study / O.S. Fedorova, J.J. Janse, L.M. Ogorodova [et al.] // *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017. – Vol. 72, N 7. – P. 1096–1104. – DOI 10.1111/all.13120.
221. *Opisthorchis viverrini*: relationships between egg counts, worms recovered and antibody levels within an endemic community in Northeast Thailand / D. Elkins, P. Sithithaworn, M. Haswell–Elkins [et al.] // *Parasitology* – 1991. – Vol. 102, N 2 – P. 283–288. – DOI 10.1017/s0031182000062600.

222. Opisthorchiasis: an overlooked danger / L.M. Ogorodova, O.S. Fedorova, B. Sripa [et al.] // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2015. – Vol. 9, N 4. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25836334/> (Дата обращения 07.04.2021).
223. *Opisthorchis felinus* infection prevalence in Western Siberia: a review of Russian literature / O.S. Fedorova, M.M. Fedotova, T.S. Sokolova [et al.] // *Acta Trop.* – 2018. – Vol. 178 – P. 196–204. – DOI 10.1016/j.actatropica.2017.11.018.
224. Orel, R. Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease / R. Orel, T. Kamhi Trop // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, N 33. – P. 11505–24. – DOI 10.3748/wjg.v20.i33.11505.
225. Patent human infections with the whipworm, *Trichuris trichiura*, are not associated with alterations in the faecal microbiota / P. Cooper, A.W. Walker, J. Reyes [et al.] // *PLoS One* – 2013. – Vol. 8, N 10 – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24124574/> (Дата обращения 07.04.2021).
226. Perinatal antibiotic treatment affects murine microbiota, immune responses and allergic asthma / S.L. Russell, M.J. Gold, B.P. Willing [et al.] // *Gut Microbes.* – 2013. – Vol. 4, N 2. – P. 158–164. – DOI 10.4161/gmic.23567.
227. Pilot screening of prevalence of atopic states and opisthorchosis and their relationship in people of Tomsk Oblast / L.M. Ogorodova, M.B. Freidin, A.E. Sazonov [et al.] // *Parasitol. Res.* – 2007. – Vol. 101, N 4. – P. 1165–1168. – DOI 10.1007/s00436–007.
228. Placenta harbors a unique microbiome / K. Aagaard, J. Ma, K.M. Antony [et al.] // *Sci. Transl. Med.* – 2014. – Vol. 6, N 237. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24848255/> (Дата обращения 07.04.2021).
229. Prebiotic potential of pectin and pectic oligosaccharides to promote anti-inflammatory commensal bacteria in the human colon / W.S.F. Chung, M. Meijerink, B. Zeuner [et al.] // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2017. – Vol. 93, N 11. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29029078/> (Дата обращения 06.04.2021).
230. Probiotics and prebiotics : World Gastroenterology Organisation Global Guidelines / eds. D. Merenstein, S. Salminen. – World Gastroenterology Organisation, 2017. – URL: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global–>

guidelines/probiotics-and-prebiotics (Дата обращения 05.04.2021).

231. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences / M.G.I. Langille, J. Zaneveld, J.G. Caporaso [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 31, N 9. – P. 814–821. – DOI 10.1038/nbt.2676.

232. Primer and platform effects on 16S rRNA tag sequencing / J. Tremblay, K. Singh, A. Fern [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2015. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26300854/> (Дата обращения 07.04.2021).

233. Probiotics for prevention of atopy and food hypersensitivity in early childhood : a PRISMA-Compliant systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / G.-Q. Zhang, H.-J. Hu, C.-Y. Liu [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2016. – Vol. 95, N 8. – P. e2562.

234. Probiotic helminth administration in relapsing-remitting multiple sclerosis : a phase 1 study / J.O. Fleming, A. Isaak, J.E. Lee [et al.] // *Mult. Scler.* – 2011. – Vol. 17, N 6. – P. 743–754. – DOI 10.1177/1352458511398054.

235. Probiotic *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* and *Streptococcus thermophilus* induce IL-12 and IFN- γ production / R.A. Kekkonen, E. Kajasto, M. Miettinen [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14, N 8. – P. 1192–1203. – DOI 10.3748/wjg.14.1192.

236. Profile of gut microbiota associated with the presence of hepatocellular cancer in patients with liver cirrhosis / M. Grąt, K.M. Wronka, M. Krasnodębski [et al.] // *Transplant. Proc.* – 2016. – Vol. 48, N 5 – P. 1687–1691. – DOI 10.1016/j.transproceed.2016.

237. Profound impact of gut homeostasis on chemically-induced pro-tumorigenic inflammation and hepatocarcinogenesis in rats / H.-L. Zhang, L.-X. Yu, W. Yang [et al.] // *J. Hepatol.* – 2012. – Vol. 57, N 4. – P. 803–812.

238. Recognition of commensal microflora by Toll-like receptors is required for intestinal homeostasis / S. Rakoff-Nahoum, J. Paglino, F. Eslami-Varzaneh [et al.] // *Cell*. – 2004. – Vol. 118, N 2. – P. 229–241. – DOI 10.1016/j.cell.2004.07.002.

239. Recognition and degradation of plant cell wall polysaccharides by two human gut symbionts / E.C. Martens, E.C. Lowe, H. Chiang [et al.] // *PLoS Biol.* – 2011. – Vol. 9,

- N 12. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22205877/> (Дата обращения 07.04.2021).
240. Reduced abundance of butyrate-producing bacteria species in the fecal microbial community in crohn’s disease / K. Takahashi, A. Nishida, T. Fujimoto [et al.] // *Digestion*. – 2016. – Vol. 93, N 1. – P. 59–65.
241. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics / P.J. Cooper, M.E. Chico, L.C. Rodrigues [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111, N 5 – P. 995–1000. – DOI 10.1067/mai.2003.1348.
242. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age / H. Bisgaard, N. Li, K. Bonnelykke [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 128, N 3 – P. 646–652. – DOI 10.1016/j.jaci.2011.04.060.
243. Registered report : *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma / J. Repass, N. Maherali, K. Owen [et al.] // *eLife*. – 2016. – Vol. 5. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5849410/> (Дата обращения 07.04.2021).
244. Ridlon, J.M. Cirrhosis, bile acids and gut microbiota: Unraveling a complex relationship / J.M. Ridlon, J.M. Alves, P.B. Hylemon, J.S. Bajaj // *Gut Microbes*. – 2013. – Vol. 4, N 5. – P. 382–387. – DOI 10.4161/gmic.25723.
245. Rocas, I.N. Species-directed 16S rRNA gene nested PCR detection of *Olsenella* species in association with endodontic diseases / I.N. Rôças, J.F. Siqueira // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2005. – Vol. 41, N 1. – P. 12–16. – DOI 10.1111/j.1472–765X.2005.01723.x.
246. Rook, G.A.W. Hygiene hypothesis and autoimmune diseases / G.A.W. Rook // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2012. – Vol. 42, N 1. – P. 5–15. – DOI 10.1007/s12016–011–8285–8.
247. Sanduzzi Zamparelli, M. The gut microbiota : a new potential driving force in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma / M. Sanduzzi Zamparelli, A. Rocco, D. Compare, G. Nardone // *United Eur. Gastroenterol. J.* – 2017. – Vol. 5, N 7. – P.

944–953. – DOI 10.1177/2050640617705576.

248. Schistosome infection intensity is inversely related to auto-reactive antibody levels / F. Mutapi, N. Imai, N. Nausch [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, N 5. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21573157/> (Дата обращения 07.04.2021).

249. Scholte, L.L.S. Helminths and cancers from the evolutionary perspective / L.L.S. Scholte, M.A. Pascoal-Xavier, L.A. Nahum // *Front. Med.* – 2018. – Vol. 5:90. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29713629/> (Дата обращения 07.04.2021).

250. Sender, R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body / R. Sender, S. Fuchs, R. Milo // *PLoS Biol.* – 2016. – Vol. 14, N 8. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27541692/> (Дата обращения 07.04.2021).

251. Sheehan, D. The microbiota in inflammatory bowel disease / D. Sheehan, C. Moran, F. Shanahan // *J. Gastroenterol.* – 2015. – Vol. 50, N 5. – P. 495–507. – DOI 10.1007/s00535–015–1064–1.

252. Shen, F. Gut microbiota dysbiosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease / F. Shen, R.D. Zheng, X.Q. Sun [et al.] // *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* – 2017. – Vol. 16, N 4. – P. 375–381. – DOI 10.1016/S1499–3872(17)60019–5.

253. Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR–S6K pathway / J. Park, M. Kim, S.G. Kang [et al.] // *Mucosal Immunol.* – 2015. – Vol. 8, N 1. – P. 80–93. – DOI 10.1038/mi.2014.44.

254. Shukla, S.D. Microbiome effects on immunity, health and disease in the lung / S.D. Shukla, K.F. Budden, R. Neal, P.M. Hansbro // *Clin. Transl. Immunol.* – 2017. – Vol. 6, N 3. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28435675/> (Дата обращения 07.04.2021).

255. Small intestinal nematode infection of mice is associated with increased enterobacterial loads alongside the intestinal tract / S. Rausch, J. Held, A. Fischer [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 9. – P. 1–13. – DOI 10.1371/journal.pone.0074026.

256. Sogodogo, E. Methanogens as emerging pathogens in anaerobic abscesses / E. Sogodogo // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2019. – Vol. 38, N 5. – P. 811–

818. – DOI 10.1007/s10096–019–03510–5.
257. Specific duodenal and faecal bacterial groups associated with paediatric coeliac disease / M.C. Collado, E. Donat, C. Ribes–Koninckx [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2009. – Vol. 62, N 3 – P. 264–269. – DOI 10.1136/jcp.2008.061366.
258. Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults / T.L. Weir, D.K. Manter, A.M. Sheflin [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 8. – P. 70803.
259. Strachan D.P. Hay fever, hygiene, and household size / D.P. Strachan // *BMJ.* – 1989. – Vol. 299, N 6710 – P. 1259–60.
260. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome / J.E. Koenig, A. Spor, N. Scalfone [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2011. – Vol. 108 – N Suppl 1. – P. 4578–4585. – DOI 10.1073/pnas.1000081107.
261. *Trichuris suis* therapy in Crohn’s disease / R.W. Summers, D.E. Elliott, J.F. Urban [et al.] // *Gut.* – 2005. – Vol. 54, N 1. – P. 87–90.
262. Suppression of type 2 immunity and allergic airway inflammation by secreted products of the helminth *Heligmosomoides polygyrus* / H.J. McSorley, M.T. O’Gorman, N. Blair [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 42, N 10. – P. 2667–2682. – DOI 10.1002/eji.201142161.
263. Sykora, J. Current global trends in the incidence of pediatric–onset inflammatory bowel disease / J. Sykora // *World J. Gastroenterol.* – 2018. – Vol. 24, N 25. – P. 2741–2763.
264. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota / J. Boursier, O. Mueller, M. Barret [et al.] // *Hepatology.* – 2016. – Vol. 63, N 3 – P. 764–775. – DOI 10.1002/hep.28356.
265. Tissue microbiome profiling identifies an enrichment of specific enteric bacteria in *Opisthorchis viverrini* associated cholangiocarcinoma / K.R. Chng, S.H. Chan, A.H.Q. Ng [et al.] // *EBioMedicine.* – 2016. – Vol. 8 – P. 195–202. – DOI 10.1016/j.ebiom.2016.
266. TLR4 regulates IFN– γ and IL–17 production by both thymic and induced Foxp3+ Tregs during intestinal inflammation / A.T. Cao, S. Yao, A.T. Stefka [et al.] //

J. Leukoc. Biol. – 2014. – Vol. 96, N 5 – P. 895–905. – DOI 10.1189/jlb.3A0114–056RR.

267. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract / E.S. Charlson, K. Bittinger, A.R. Haas [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 184, N 8 – P. 957–963. – DOI 10.1164/rccm.201104–0655OC.

268. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease / D. Gevers, S. Kugathasan, L.A. Denson [et al.] // *Cell Host Microbe.* – 2014. – Vol. 15, N 3. – P. 382–392. – DOI 10.1016/j.chom.2014.02.005.

269. *Trichuris suis* ova therapy for allergic rhinitis : a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial / P. Bager, J. Arved, S. Rønberg [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19800680/> (Дата обращения 05.04.2021).

270. *Trichuris muris* infection in C57BL/6 mice causes significant changes in host microbiota and metabolome : effects reversed by pathogen clearance / A. Houlden, K.S. Hayes, A.J. Bancroft [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, N 5. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25938477/> (Дата обращения 06.04.2021).

271. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* – multiple pathways to cancer / B. Sripa, P.J. Brindley, J. Mulvenna [et al.] // *Trends Parasitol.* – 2012. – Vol. 28, N 10. – P. 395–407. – DOI 10.1016/j.pt.2012.07.006.

272. Urbanization and the gut microbiota in health and inflammatory bowel disease / T. Zuo, M.A. Kamm, J.-F. Colombel, S.C. Ng // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2018. – Vol. 15, N 7. – P. 440–452. – DOI 10.1038/s41575-018-0003-z.

273. Walters, W.A. Meta-analyses of human gut microbes associated with obesity and IBD / W.A. Walters, Z. Xu, R. Knight // *FEBS Lett.* – 2014. – Vol. 588, N 22. – P. 4223–4233.

274. Wendel-Haga, M. Is the hygiene hypothesis relevant for the risk of multiple sclerosis? / M. Wendel-Haga, E.G. Celius // *Acta Neurol. Scand.* – 2017. – Vol. 136 – P. 26–30.

275. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota / R.E. Ley, C.A. Lozupone, M. Hamady [et al.] // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008. – Vol. 6, N 10. – P.

776–788. – DOI 10.1038/nrmicro1978.

276. Xylooligosaccharide supplementation alters gut bacteria in both healthy and prediabetic adults : a pilot study / J. Yang, P.H. Summanen, S.M. Henning [et al.] // *Front. Physiol.* – 2015. – Vol. 6, N 216. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26300782/> (Дата обращения 07.04.2021).

277. Yang B. Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis / B. Yang, Y. Wang, P. Y. Qian // *BMC Bioinformatics.* – 2016. – Vol. 17, N 1. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27000765/> (Дата обращения 07.04.2021).

278. Zaiss, M.M. Interactions between the intestinal microbiome and helminth parasites / M.M. Zaiss, N.L. Harris // *Parasite Immunol.* – 2016. – Vol. 38, N 1. – P. 5–11.

279. Zeissig, S. Commensal microbiota and NKT cells in the control of inflammatory diseases at mucosal surfaces / S. Zeissig, R.S. Blumberg // *Curr. Opin. Immunol.* – 2013. – Vol. 25, N 6. – P. 690–6.

280. Zhang, T. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic / T. Zhang // *Microb. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 12, N 6. – P. 1109–1125.

281. Zhou, Y. Lower level of *Bacteroides* in the gut microbiota is associated with inflammatory bowel disease : a meta-analysis / Y. Zhou, F. Zhi // *Biomed Res. Int.* – 2016. – Vol. 2016. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5143693/> (Дата обращения 07.04.2021).

282. Zwang, J. Clinical efficacy and tolerability of praziquantel for intestinal and urinary schistosomiasis—a meta-analysis of comparative and non-comparative clinical trials / J. Zwang, P.L. Olliaro // *PLoS Negl. Trop. Dis.* – 2014. – Vol. 8, N 11. – DOI 10.1371/journal.pntd.0003286.

283. Zwang, J. Efficacy and safety of praziquantel 40 mg/kg in preschool-aged and school-aged children : a meta-analysis / J. Zwang, P. Olliaro // *Parasites and Vectors.* – 2017. – Vol. 10, N 1. – DOI 10.1186/s13071-016-1958-7.