

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА И ИХ СВЯЗЬ С ТЯЖЕСТЬЮ ЗАБОЛЕВАНИЯ И НЕКОТОРЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19

Л. Н. Гуменюк, М. В. Голод, Н. В. Силаева, Л. Е. Сорокина [✉], С. С. Ильясов, Н. А. Андрощук, О. Р. Кривошапко, А. М. Велиляев, Л. Н. Асанова
Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь, Россия

Важной составляющей поддержания иммунного гомеостаза в том числе при COVID-19 является микробиота кишечника. Целью работы было изучить изменения таксономического состава микробиоты кишечника и характер их взаимосвязи с тяжестью заболевания, содержанием IL6, IL10, IL17 и TNF α у пациентов с COVID-19. В одномоментном сравнительном исследовании приняли участие 110 пациентов с COVID-19 (основная группа) и 98 лиц, не инфицированных COVID-19 (контрольная группа). Оценку состава микробиоты кишечника проводили методом шотган-секвенирования. Уровень IL6, IL10, IL17 и TNF α в сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Обнаружены статистически значимые изменения в составе кишечной микробиоты у пациентов с COVID-19 в отличие от контрольной группы: снижение численности *B. adolescentis* ($p = 0,048$), *E. rectale* ($p = 0,036$), *F. prausnitzii* ($p = 0,0002$), *B. dorei* ($p < 0,001$) и повышение численности *R. gnavus* ($p = 0,012$), *Cl. hathewayi* ($p = 0,003$), *E. faecium* ($p = 0,0003$). Установлена корреляция численности *B. dorei* с показателем IL6 ($r = 0,49$; $p = 0,034$), численности *F. prausnitzii* и показателей IL10, IL17 ($r = 0,44$; $p = 0,001$ и $r = -0,52$; $p < 0,001$ соответственно). Численность *R. gnavus* коррелировала с показателем TNF α , а численность *E. faecium* — с IL6 ($r = 0,47$; $p = 0,002$) и TNF α ($r = 0,56$; $p = 0,001$). Также выявлена сопряженность численности *B. dorei*, *F. prausnitzii* и *E. faecium* с более высокими баллами по шкале оценки клинического состояния ШОКС-КОВИД ($r = -0,54$; $p = 0,001$, $r = -0,60$; $p < 0,001$ и $r = 0,67$; $p = 0,005$ соответственно). Направленная коррекция кишечной микробиоты может улучшить эффективность лечения COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, микробиота кишечника, цитокиновый статус

Вклад авторов: Л. Н. Гуменюк, Л. Е. Сорокина — существенный вклад в замысел и дизайн исследования; М. В. Голод, Н. В. Силаева, Н. А. Андрощук — сбор, анализ и интерпретация данных; С. С. Ильясов — статистическая обработка данных; О. Р. Кривошапко, А. М. Велиляев, Л. Н. Асанова — подготовка рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Крымской медицинской академии им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (протокол № 11 от 23 ноября 2021 г.), спланировано и проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией. Все лица, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Ляя Евгеньевна Сорокина
буль. Ленина, 5/7, г. Симферополь, 295006, Республика Крым; leya.sorokina@mail.ru

Статья получена: 18.01.2022 **Статья принята к печати:** 02.02.2022 **Опубликована онлайн:** 19.02.2022

DOI: 10.24075/vrgmu.2022.006

GUT MICROBIOTA ALTERATIONS AND THEIR RELATIONSHIP TO THE DISEASE SEVERITY AND SOME CYTOKINE PROFILE INDICATORS IN PATIENTS WITH COVID-19

Gumenyuk LN, Golod MV, Silaeva NV, Sorokina LE [✉], Ilyasov SS, Androschuk NA, Krivoschapko OR, Velilyaev AM, Asanova LN
Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

Gut microbiota is an essential element of maintaining the immune homeostasis, including in individuals with COVID-19. The study was aimed to assess taxonomic changes in the gut microbiota and their relationship with the disease severity and the levels of IL6, IL10, IL17, and TNF α in patients with COVID-19. A total of 110 patients with COVID-19 (index group) and 98 individuals with no COVID-19 (control group) were enrolled to the comparative cross-sectional study. The gut microbiota composition was determined by shotgun sequencing. Blood serum levels of IL6, IL10, IL17, and TNF α were assessed by enzyme-linked immunosorbent assay. The following significant changes in the gut microbiota composition were observed in patients with COVID-19 in contrast to controls: decreased abundance of *B. adolescentis* ($p = 0.048$), *E. rectale* ($p = 0.036$), *F. prausnitzii* ($p = 0.0002$), *B. dorei* ($p < 0.001$), and increased abundance of *R. gnavus* ($p = 0.012$), *Cl. hathewayi* ($p = 0.003$), *E. faecium* ($p = 0.0003$). Correlations were established between the abundance of *B. dorei* and the IL6 levels ($r = 0.49$; $p = 0.034$), the abundance of *F. prausnitzii* and the levels of IL10, IL17 ($r = 0.44$; $p = 0.001$ and $r = -0.52$; $p < 0.001$, respectively). The abundance of *R. gnavus* correlated with the TNF α levels, and the abundance of *E. faecium* was related to the levels of IL6 ($r = 0.47$; $p = 0.002$) and TNF α ($r = 0.56$; $p = 0.001$). The relationship between the abundance of *B. dorei*, *F. prausnitzii*, *E. faecium* and the higher SHOKS-COVID clinical assessment scale scores was also revealed ($r = -0.54$; $p = 0.001$, $r = -0.60$; $p < 0.001$ and $r = 0.67$; $p = 0.005$, respectively). Targeted correction of gut microbiota may improve the COVID-19 treatment efficacy.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, gut microbiota, cytokine status

Author contribution: Gumenyuk LN, Sorokina LE — significant contribution to the study concept and design; Golod MV, Silaeva NV, Androschuk NA — data acquisition, analysis, and interpretation; Ilyasov SS — statistical data processing; Krivoschapko OR, Velilyaev AM, Asanova LN — manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the S.I. Georgievsky Medical Academy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University (protocol № 11 dated November 23, 2021), planned and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. The informed consent was obtained from all study participants.

✉ **Correspondence should be addressed:** Leya E. Sorokina
Bulvar Lenina, 5/7, Simferopol, 295006, Republic of Crimea; leya.sorokina@mail.ru

Received: 18.01.2022 **Accepted:** 02.02.2022 **Published online:** 19.02.2022

DOI: 10.24075/brsmu.2022.006

В связи с новой коронавирусной инфекцией, вызванной вирусом SARS-CoV-2 и получившей название COVID-19, Всемирной организацией здравоохранения была объявлена пандемия [1]. Тяжелые формы течения этого заболевания сопровождаются развитием прогрессирующей вирусной пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). В патофизиологии COVID-19 значимую роль

играет нарастающее системное воспаление. С тяжестью заболевания тесно связано избыточное продуцирование цитокинов, вызванное вирусом SARS-CoV-2, известное как «цитокиновый шторм» [2]. У пациентов с COVID-19 обнаруживают высокие уровни интерлейкинов IL1 β , IL1RA, IL6, IL8, IL9, IL10, IL17, С-реактивного белка (CRP), фактора некроза опухоли (TNF α) [3–5].

Накопленные данные в исследованиях *in vitro* и *in vivo* свидетельствуют о том, что желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) тоже восприимчив к инфекции COVID-19. Например, на модели *in vitro*, имитирующей клеточные и пространственные структуры кишечника, была продемонстрирована способность вируса SARS-CoV-2 инфицировать энтероциты [6]. Частота возникновения гастроинтестинальных симптомов у пациентов с COVID-19 достигает 20% [7]. Причина этого в способности SARS-CoV-2 проникать в клетки путем связывания с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2), который активно экспрессируется на поверхности энтероцитов подвздошной и толстой кишки, что и приводит к гастроинтестинальным симптомам путем вызванного вирусом иммуноопосредованного повреждения [8]. Кроме того, вирусная РНК SARS-CoV-2 может быть обнаружена в образцах кала спустя более 30 дней после начала заболевания [9]. В данном аспекте в литературе активно обсуждают роль микробиоты кишечника. Как известно, микробиота кишечника является важной составляющей поддержания иммунного гомеостаза. В свою очередь дисбиотические нарушения микробиоты кишечника напрямую связаны с многочисленными воспалительными заболеваниями [10]. Представлены убедительные данные о качественных изменениях микробиоты кишечника у пациентов, инфицированных COVID-19 [11]. В целом, у пациентов с COVID-19 отмечена тенденция к уменьшению видового разнообразия бактерий, истощению полезных комменсалов и обогащению патобионтами [12], однако сведения о видовом составе микробиоты кишечника фрагментарны и противоречивы. Учитывая, что взаимодействия, реализуемые посредством оси «кишечник–легкие», потенциально могут повышать восприимчивость организма хозяина к вирусной инфекции и снижать функциональную активность иммунных клеток, что способствует развитию системного гипервоспаления с синдромом «цитокинового шторма», является актуальным дальнейшее изучение изменений микробиоты кишечника и характера их взаимосвязи с показателями цитокинового статуса у пациентов с COVID-19.

Цель исследования — изучение изменений таксономического состава микробиоты кишечника и характера их взаимосвязи с тяжестью заболевания, IL6, IL10, IL17 и TNF α у пациентов с COVID-19.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Методом сплошной выборки в сравнительное одномоментное исследование было включено 110 пациентов с COVID-19 (женщины — 66 (60,0%), мужчины — 44 (40,0%); средний возраст — 28,6 \pm 8,4 лет), поступивших на стационарное лечение в больницы, работающие в системе обязательного медицинского страхования г. Симферополя (основная группа, ОГ) и 98 здоровых добровольцев, не инфицированных COVID-19 (женщины — 61 (62,2%), мужчины — 37 (37,8%); средний возраст — 29,2 \pm 7,6 лет), проходивших ежегодный профилактический медицинский

осмотр на базе медицинского центра «Гемокод» г. Симферополя (контрольная группа, КГ).

Критерии включения пациентов в ОГ: возраст 18–45 лет; подтвержденная COVID-19 на основании положительной полимеразной цепной реакции (ПЦР) на РНК вируса SARS-CoV-2 и/или типичной картины вирусной пневмонии при мультиспиральной компьютерной томографии (КТ); легкое, среднетяжелое и тяжелое течение COVID-19.

Критерии невключения в ОГ: крайне тяжелое течение COVID-19; сахарный диабет I и II типа; ожирение; инфаркт миокарда, тяжелые нарушения ритма сердца, сердечная недостаточность; гипертоническая болезнь, инсульт, транзиторная ишемическая атака в анамнезе; острое нарушение мозгового кровообращения (за предшествующие шесть месяцев до начала исследования); тяжелые или декомпенсированные сопутствующие соматические заболевания, которые могут затруднять участие больного в исследовании и влиять на его результаты; синдром раздраженного кишечника; хронические заболевания ЖКТ, печени; гематологические и онкологические заболевания; психические расстройства, алкоголизм или наркомания в анамнезе; прием антибиотиков, пробиотиков, пребиотиков, противовирусных, симбиотических или кислотоподавляющих препаратов в предшествующие три месяца до начала исследования; прием препаратов, влияющих на стул в предшествующий месяц до начала исследования; отказ от участия в исследовании.

Критерии включения здоровых добровольцев: возраст 18–45 лет; не подтвержденная COVID-19 на основании проведенной ПЦР на РНК вируса SARS-Co; отсутствие хронических заболеваний и аллергических реакций; отсутствие инфекционных и острых заболеваний в течение двух месяцев перед исследованием; отсутствие психических расстройств, алкоголизма или наркомании в анамнезе; отсутствие нарушений стула (запоров/диареи) в предшествующий месяц до начала исследования; не принимавшие антибиотики, пробиотики, пребиотики, противовирусные и симбиотические препараты в предшествующие три месяца до начала исследования; не принимавшие препараты, влияющие на стул в предшествующий месяц до начала исследования.

Критерии невключения здоровых добровольцев: температура тела выше 36,9 °С; отказ от участия в исследовании.

Характеристика пациентов с COVID-19 и здоровых добровольцев представлена в табл. 1. Группы были сопоставимы по полу ($p = 0,96$; χ^2), возрасту ($p = 0,92$; χ^2) и индексу массы тела ($p = 0,054$; χ^2).

Клиническая характеристика пациентов с COVID-19 представлена в табл. 2. Среди пациентов преобладали лица со среднетяжелым течением COVID-19 — 80 (72,7 \pm 0,68%). Наиболее частыми симптомами заболевания были лихорадка — 103 (94,2%) и кашель — 96 (86,9 \pm 0,61%). По данным КТ вирусная пневмония диагностирована у 95 (67,1 \pm 0,38%) пациентов.

Диагноз COVID-19 у всех пациентов был подтвержден с помощью ПЦР на вирус SARS-CoV-2 (материал получен с помощью мазка из носоглотки и ротоглотки) и/или типичной

Таблица 1. Характеристика пациентов с COVID-19 и здоровых добровольцев

Показатель	Основная группа (n = 110)	Контрольная группа (n = 98)
Женщины / мужчины (n, %)	66 (60,0) / 44 (40,0)	61 (62,2) / 37 (37,8)
Средний возраст, лет (M \pm CD)	28,6 \pm 8,4	29,2 \pm 7,6
Индекс массы тела, кг/м ² (M \pm CD)	23,4 \pm 4,2	23,7 \pm 3,6

Таблица 2. Клиническая характеристика пациентов с COVID-19

Показатель	Основная группа (n = 110)
Легкое течение (n, %)	7 (6,3)
Среднетяжелое течение (n, %)	80 (72,7)
Тяжелое течение (n, %)	23 (21,0)
Лихорадка	103 (94,2)
Боль в горле	68 (61,8)
Кашель	96 (86,9)
Одышка	63 (56,9)
Тошнота	37 (33,6)
Диарея	24 (22,1)
Температура, медиана [25%; 75%]	37,8 [36,7; 37,9]
ЧДД в 1 мин, медиана [25%; 75%]	20,0 [17,0; 22,0]
ЧСС, уд./мин (m ± SD)	89,9 ± 16,1
САД, мм. рт. ст., медиана [25%; 75%]	120 [120; 132]
SO ₂ , %, медиана [25%; 75%]	96,0 [94,0; 98,0]
Оценка тяжести состояния по шкале ШОКС-КОВИД, баллы, Me [25%; 75%]	3,4 [1,6; 6,1]
Стадия по КТ-0 (n, %)	25 (22,6)
Стадия по КТ-1 (n, %)	41 (37,4)
Стадия по КТ-2 (n, %)	32 (29,1)
Стадия по КТ-3 (n, %)	12 (10,9)

Примечание: ЧДД — частота дыхательных движений, ЧСС — частота сердечных сокращений, САД — систолическое артериальное давление, SO₂ — сатурация кислорода, КТ — компьютерная томография

картины вирусной пневмонии при мультиспиральной КТ. Диагностику и степень тяжести COVID-19, распространенность пневмонии по результатам КТ оценивали согласно Временным методическим рекомендациям по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Минздрава РФ 6–9-й версий.

С целью объективизации тяжести клинического состояния мы использовали оригинальную шкалу оценки клинического состояния больных с коронавирусной инфекцией (ШОКС-КОВИД) [13].

Для анализа таксономического состава микробиоты кишечника у пациентов в первый день госпитализации (в утреннее время с 8.00 до 10.00) были взяты образцы кала, которые замораживали и хранили в одноразовых пластиковых контейнерах при температуре –80 °С до проведения метагеномного анализа. Выделение тотальной ДНК проводили методом фенольной экстракции. Нуклеотидная последовательность выделенной ДНК была установлена методом шотган-секвенирования с использованием высокопроизводительного секвенатора SOLiD5500 Wildfire (AppliedBiosystems; США) [14].

Фильтрацию прочтений по качеству и их таксономическую классификацию проводили с помощью программного обеспечения QIIME версии 1.9.1 [15]. Для определения таксономической принадлежности прочтений применяли подход, включающий в себя использование двух таксономических баз данных. На первом этапе осуществляли подбор референсного набора операционных таксономических единиц (ОТЕ) бактерий на основании сравнения полученных прочтений генов 16S rPHK с базой данных GreenGenes версии 13.5 [16]. На втором этапе с использованием алгоритма RDP определение таксономической принадлежности данных ОТЕ проводили на основе специализированной базы данных кишечной микробиоты человека HITdb [17].

Изучение качественного и количественного состава микробиоты кишечника осуществляли на основании

определения видов, родов и фил микроорганизмов. Оценку α -разнообразия сообщества путем расчета индекса Chao1, показателя числа обнаруженных таксонов (Sobs), показателя, оценивающего реальное количество таксонов (ACE), проводили с помощью программы Mothur v.1.22.0 (<http://www.mothur.org>).

В качестве маркеров цитокинового профиля нами выбраны IL6, IL10, IL17 и TNF α , что обусловлено их значимой ролью в патогенезе «цитокинового шторма» и ОРДС [3–5].

Забор крови из периферической вены выполняли в первый день госпитализации натощак в утренние часы (7.00–9.00) в состоянии покоя (не менее 15 мин). Пробирки с сывороткой крови хранили в замороженном состоянии при температуре –20 °С. Уровень IL6, IL10, IL17 и TNF α в сыворотке крови изучали с помощью тест-системы твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) (Вектор-Бест; Новосибирск, Россия) на автоматическом ИФА-анализаторе «Elisys Quattro» (Human GmbH; Германия).

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft. Inc.; США). При нормальном распределении показателей определяли среднее значение и стандартное отклонение, при распределении, отличном от нормального, — медиану, 25-й и 75-й процентиля. Нормальность распределения проверяли при помощи распределения Гаусса. Для качественных признаков определяли долю и абсолютное число значений. Сравнительный анализ для нормально распределенных количественных признаков проводили с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента, при распределении, отличном от нормального, — с помощью *U*-критерия Манна-Уитни, для количественных признаков — с помощью критерия χ^2 (хи-квадрат). Для оценки взаимосвязи признаков рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Применяли также

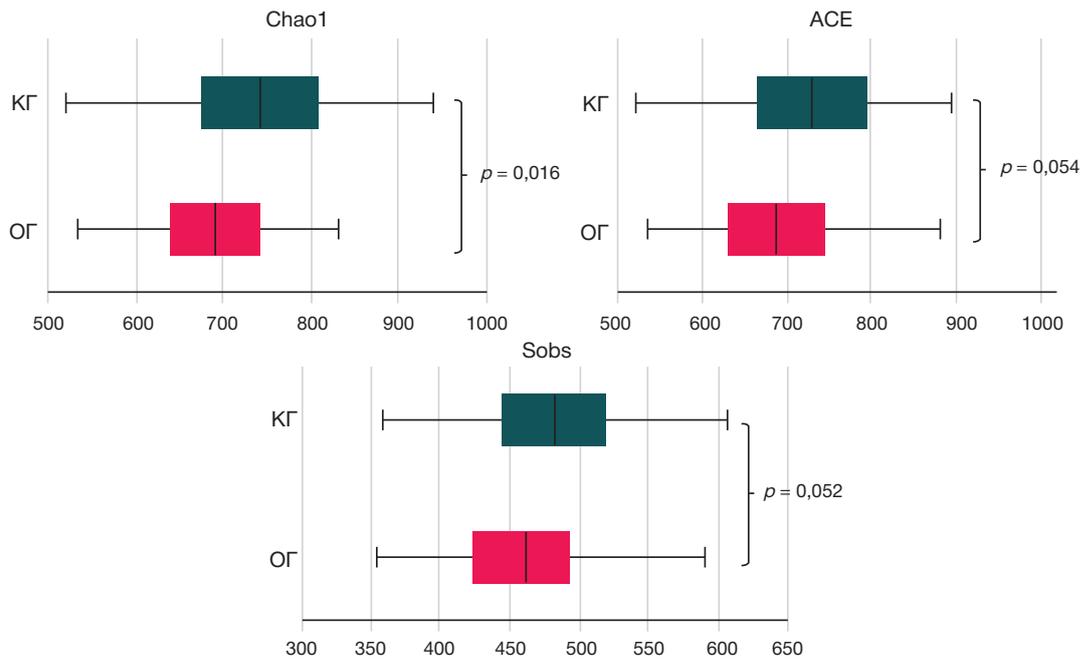


Рис. 1. Сравнительный анализ филогенетического состава микробиоты кишечника пациентов с COVID-19 и здоровых добровольцев. О — основная группа, КГ — контрольная группа

корреляционный анализ и множественную ранговую корреляцию, достоверность корреляционных связей проверяли при помощи таблиц сопряженности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При изучении таксономического состава микробиоты кишечника у пациентов с COVID-19 по сравнению с лицами КГ обнаружено статистически значимое снижение α -разнообразия бактериального сообщества (индекс Chao1; $p = 0,016$). Индексы ACE и Sobs в группе пациентов с COVID-19 по сравнению с КГ также были несколько

снижены, при этом статистически значимых различий не найдено ($p = 0,054$; $p = 0,052$ соответственно) (рис. 1).

При сравнении видового состава кишечной микробиоты в группах обследованных у пациентов с COVID-19 по сравнению с КГ установлено статистически значимое снижение численности *Bifidobacterium adolescentis* SPM1005-A ($p = 0,048$), *Eubacterium rectale* ATCC 33656 ($p = 0,036$), *Faecalibacterium prausnitzii* A2-165 ($p = 0,0002$), *Bacterioides dorei* DSM 17855 ($p = 0,001$) и выявлено повышение численности *Ruminococcus gnavus* ATCC 29149 ($p = 0,012$), *Clostridium hathewayi* DSM-13479 ($p = 0,003$) и *Enterococcus faecium* W54 ($p = 0,0003$) (рис. 2).

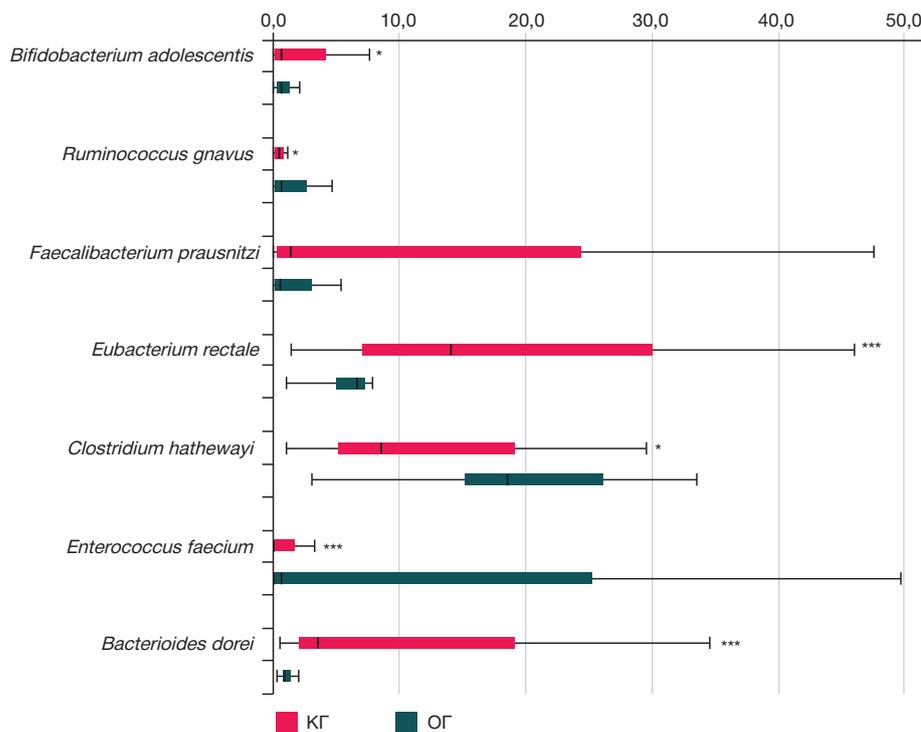


Рис. 2. Сравнительный анализ родового состава микробиоты кишечника у лиц с COVID-19 и здоровых добровольцев. ОГ — основная группа, КГ — контрольная группа

Таблица 3. Сравнительный анализ цитокинового профиля у пациентов с COVID-19 и здоровых добровольцев ($m \pm CD$)

Показатель	Основная группа $n = 110$	Контрольная группа $n = 98$	p
IL6, пг/мл	10,5 ± 6,6	3,8 ± 1,8	$p = 0,036$
IL10, пг /мл	9,3 ± 5,4	2,9 ± 1,1	$p = 0,021$
IL17, пг /мл	4,9 ± 2,2	2,4 ± 1,1	$p = 0,046$
TNF α , пг /мл	17,9 ± 8,6	5,2 ± 2,4	$p = 0,012$

Показатели IL6, IL10, IL17 и TNF α в сыворотке крови у пациентов с COVID-19 по сравнению с показателями КГ статистически значимо выше (табл. 3).

В ходе уточнения взаимосвязи изменений микробиоты кишечника с некоторыми показателями цитокинового профиля у пациентов с COVID-19 получены статистически значимые корреляционные связи численности бактерий *B. dorei* с показателем IL6 ($r = -0,49$; $p = 0,034$), численности бактерий *F. prausnitzii* и показателей IL10, IL17 ($r = -0,44$; $p = 0,001$ и $r = -0,52$; $p < 0,001$ соответственно). Численность бактерий *R. gnavus* коррелировала с показателем TNF α ($r = 0,51$; $p = 0,036$), а численность *E. faecium* — с IL6 ($r = 0,47$; $p = 0,002$) и TNF α ($r = 0,56$; $p = 0,001$). В ходе корреляционного анализа выявлена также сопряженность численности бактерий *B. dorei*, *F. prausnitzii* и *E. faecium* с более высокими баллами по ШОКС-КОВИД ($r = -0,54$ и $p = 0,001$; $r = -0,60$ и $p < 0,001$; $r = 0,67$ и $p = 0,005$ соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ряде ранее выполненных работ сообщается об изменении состава микробиоты кишечника у пациентов с COVID-19 [7, 11, 12]. Результаты настоящего исследования тоже показали, что состав микробиоты кишечника у пациентов с COVID-19 значительно отличается от такового у лиц, не инфицированных COVID-19. По нашим данным, у пациентов с COVID-19 по сравнению с лицами, не инфицированными COVID-19, более низкое бактериальное α -разнообразие, что подтверждается статистически более низким индексом Chao1 и согласуется с результатами ранее выполненных исследований [11]. У пациентов с COVID-19 дисбиотические изменения кишечника характеризовались снижением численности бактерий с иммуномодулирующим потенциалом — представителей типа *B. adolescentis*, *E. rectale*, *F. prausnitzii*, *B. dorei*, которые, как известно, являются основными продуцентами бутирата (мощного противовоспалительного метаболита). В то же время мы обнаружили повышенную численность потенциальных патобионтов — бактерий *R. gnavus*, *Cl. hathewayi* и *E. faecium*. Среди них стоит отметить наличие *E. faecium*, которые ранее были обнаружены в образцах фекалий пациентов с COVID-19 итальянскими исследователями [18]. Высокое содержание *E. faecium* в микробиоте кишечника у пациентов в критическом состоянии может иметь клиническое значение, в связи с ее патогенным потенциалом, резистентностью ко многим широко используемым противомикробным препаратам и способностью к стремительному приобретению генетического материала или изменению генной экспрессии, позволяющей ей приобретать детерминанты устойчивости практически ко всем антибактериальным средствам [19, 20]. Независимо от штамма рода *Enterococcus*, кишечная микробиота у пациентов с COVID-19 способна, таким образом, действовать как резервуар условно-патогенных микроорганизмов, потенциально устойчивых к антибиотикам, с возможностью

миграции через поврежденные эпителиальные барьеры в системный кровоток, как уже было продемонстрировано в контексте других заболеваний [20]. Полученные нами результаты частично соотносятся с данными ряда других ранее выполненных работ. Например, в одной из работ, для пациентов с COVID-19 были характерны снижение численности *B. dorei* и повышение численности *E. faecium* [18]. В другом исследовании для пациентов с COVID-19 были характерны снижение численности *B. adolescentis*, *E. rectale*, *F. prausnitzii* и повышение численности бактерий *R. gnavus* [21]. Контрастирование полученных данных может быть обусловлено тем, что наблюдения выполняли в различных географических регионах и использовали различные критерии включения в исследование. Группы значительно различались по возрасту: 28,6 ± 8,4 года в нашем исследовании против 73,0 [59,0; 85,0] в ранее описанном [18] и 36,4 ± 18,7 года — в исследовании [21]. Кроме того, в отличие от вышеуказанных авторов мы не включали в наблюдение пациентов, имеющих коморбидные соматические заболевания и принимающих антибактериальные и/или противовирусные препараты с целью нивелирования их влияния на результаты исследования.

Несмотря на то что некоторые идентифицированные нами бактерии могут быть общими для ряда других заболеваний, как кишечных, так и системных, установленная в нашей работе сопряженность сниженного содержания бактерий *B. dorei*, *F. prausnitzii* и повышенного содержания бактерий *E. faecium* с более высокими баллами по ШОКС-КОВИД позволяет предположить, что изменения численности этих бактерий могут быть характерными для данной когорты пациентов с COVID-19. Обнаруженные ассоциации мы сопоставили с результатами ранее выполненных исследований. Так, у пациентов, поступивших в отделение интенсивной терапии, наблюдалось истощение представителей рода *Bacteroides* [18]. Интересно, что в другой работе [7] представленность *B. dorei* обратно коррелировала с фекальной нагрузкой SARS-CoV-2 у пациентов с COVID-19. Авторы отметили, что с учетом ассоциированности этой бактерии с пониженной экспрессией рецепторов АПФ2 в ободочной кишке мышей, *B. dorei* может быть потенциально протективной в отношении вируса SARS-CoV-2. Представлены данные об обратной корреляции бактерий *F. prausnitzii*, известной своими противовоспалительными эффектами, и степенью тяжести инфекции COVID-19 [7]. В то же время у пациентов с COVID-19 из отделения интенсивной терапии по сравнению с пациентами из отделения общей терапии отмечена более высокая численность штаммов рода *Enterococcus* ($p = 0,0001$) [18]. Можно предположить, что терапевтическое повышение численности *B. dorei*, *F. prausnitzii* и снижение численности *E. faecium* эффективны в отношении смягчения тяжести заболевания, однако для подтверждения данной гипотезы необходимо проведение дополнительных исследований с соответствующим дизайном. Ряд авторов отмечает, что пробиотические и/или пребиотические препараты могут быть использованы

в качестве потенциального (дополнительного) вектора терапии COVID-19 с целью снижения тяжести инфекции и минимизации риска вторичных бактериальных осложнений [22, 23].

В ряде исследований доказано влияние микробиоты кишечника на восприимчивость к инфекционным и неинфекционным заболеваниям [24]. Отмечено, что иммуномодулирующее действие кишечной микрофлоры реализуется посредством активации генов ряда цитокинов в иммунных и эпителиальных клетках, что определяет гетерогенность их иммуномодулирующих свойств [25]. Сообщалось, что как для доминантных микросимбионтов, так и для ассоциантов характерна гетерогенность в проявлении иммунорегуляторных эффектов [26]. Так, суммарные эффекты воздействия представителей нормофлоры на секрецию цитокинов иммунными клетками человека в условиях эубиоза обеспечивают цитокиновый баланс, характеризующийся умеренным уровнем провоспалительных цитокинов (IL6, TNF α) и контролируемый супрессивным воздействием антифлогенных цитокинов. В условиях нарастания антигенной нагрузки при дисбиозе через активацию toll-like-рецепторов усиливается продукция целого спектра провоспалительных цитокинов, которые способствуют развитию как локального воспаления, так и эффекторных иммунных реакций в лимфоидных образованиях кишечника, защищающих организм от патогенов [27].

Как указывалось ранее, при инфекции COVID-19 содержание цитокинов IL6, IL10, IL17 и TNF α повышается [4]. В настоящем исследовании у пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми добровольцами также установлены статистически значимые различия в уровне IL6, IL10, IL17 и TNF β .

Предполагается, что тяжесть COVID-19 является следствием «цитокинового шторма» [4]. Примечательно, что некоторые из вышеперечисленных цитокинов коррелируют с паттерном микробиоты кишечника, специфический профиль которой способен инициировать «цитокиновый шторм». В настоящем исследовании у пациентов с COVID-19 установлена корреляция между численностью бактерий *B. dorei* и уровнем IL6.

Выявлена сопряженность численности бактерий *F. prausnitzii* и показателей IL10, что может быть опосредовано снижением секреции метаболитов, блокирующих активацию транскрипционного фактора NF-kB и продуцирование IL8. Например, в исследовании *in vivo* показано, что активация мононуклеарных клеток периферической крови посредством *F. prausnitzii* вызывала значительное снижение секреции IL12 и TNF α и увеличение секреции IL10 [28]. Кроме того, численность бактерий *F. prausnitzii* обратно коррелировала с уровнем IL17. В ходе анализа литературных данных мы не встретили работ, посвященных изучению связи между микробиотой

кишечника и IL17 у пациентов с COVID-19. Вместе с тем, показано, что *F. prausnitzii* подавляет продукцию IL17 у крыс [29]. На модели экспериментального колита было продемонстрировано, что бактерии *F. prausnitzii*, проявляя свой противовоспалительный эффект за счет продукции бутирата, поддерживающего баланс между противовоспалительными Т-хелперными клетками 17 типа (Th17) и иммунорегуляторными (T_{reg}) Т-клетками посредством ингибирования гистондеацетилазы 1. В свою очередь, нарушение баланса между Th17 и T_{reg} способствует развитию аутоиммунного воспаления [30].

Нами также выявлена сопряженность численности бактерий *Ruminococcus gnavus* и показателей TNF α . Эти данные согласуются с результатами ранее опубликованной работы [31], в которой установлено, что более высокое содержание бактерий *R. gnavus* у пациентов с COVID-19 коррелирует с всплеском провоспалительных цитокинов IFN γ и TNF α , что обуславливает цитокиновый шторм и активацию Т-хелперных клеток 1-го типа.

Мы обнаружили, что численность бактерий *E. faecium* коррелировала с уровнем IL6 и TNF α . В литературе нами были найдены подобные корреляции у пациентов с язвенным колитом [32] и у пациентов со СПИДОМ/ВИЧ [33].

Таким образом, в условиях кишечного дисбиоза на фоне COVID-19 у представителей нормофлоры ограничивается направленность иммунорегуляторных эффектов на противовоспалительные цитокины, что способствует нарушению гомеостаза и развитию воспалительных и аутоиммунных реакций.

ВЫВОДЫ

У пациентов с COVID-19 установлена сопряженность сниженного содержания бактерий *B. dorei*, *F. prausnitzii* и повышенного содержания бактерий *E. faecium* с более высокими баллами по ШОКС-КОВИД, что свидетельствует о патогномичности данных таксономических изменений микрофлоры кишечника для лиц, инфицированных SARS-CoV-2. У пациентов с SARS-CoV-2-инфекцией обнаружены статистически значимые корреляционные связи численности кишечных бактерий *B. dorei*, *F. prausnitzii*, *R. gnavus*, *E. faecium* с показателем IL6, IL10, IL17, TNF α , что подтверждает способность микробиоты кишечника участвовать в системных воспалительных реакциях и поддерживать толерантность иммунного ответа при COVID-19. Полученные данные в совокупности с имеющимися в мировой литературе указывают на значимую роль микробиоты в патогенезе COVID-19. Более системное и детальное исследование в этом направлении позволит разработать новые подходы, препараты селективных пробиотиков для коррекции микробиоты при протекании COVID-19 и лечении постковидных последствий.

Литература

1. Statement on the second meeting of the International Health Regulations Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV). World Health Organization (WHO), 2020. Available from: [https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov)) (assessed Dec 15, 2021).
2. Tao W, Zhang G, Wang X, et al. Analysis of the intestinal microbiota in COVID-19 patients and its correlation with the inflammatory factor IL18. *Med Microecol.* 2020; 5: 100023. DOI:10.1016/j.medmic.2020.100023.
3. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020; 20 (6): 363–74. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8.

4. Costela-Ruiz VJ, Illescas-Montes R, Puerta-Puerta JM, Ruiz C, Melguizo-Rodríguez L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020; 54: 62–75. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.06.001.
5. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020; 395: 1054–62. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
6. Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science.* 2020; 369 (6499): 50–54. DOI: 10.1126/science.abc1669.
7. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology.* 2020; 159 (3): 944–55.e8. DOI:10.1053/j.gastro.2020.05.048.
8. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020; 382 (18): 1708–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.
9. Chan KH, Poon LL, Cheng VC, et al. Detection of SARS coronavirus in patients with suspected SARS. *Emerg Infect Dis.* 2004; 10 (2): 294–9. DOI: 10.3201/eid1002.030610.
10. Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes.* 2012; 3 (1): 4–14. DOI: 10.4161/gmic.19320.
11. Gu S, Chen Y, Wu Z, et al. Alterations of the Gut Microbiota in Patients With Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza. *Clin Infect Dis.* 2020; 71 (10): 2669–78. DOI: 10.1093/cid/ciaa709.
12. Zuo T, Liu Q, Zhang F, et al. Depicting SARS-CoV-2 faecal viral activity in association with gut microbiota composition in patients with COVID-19. *Gut.* 2021; 70 (2): 276–84. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322294.
13. Мареев В. Ю., Беграмбекова Ю. Л., Мареев Ю. В. Как оценивать результаты лечения больных с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19)? Шкала Оценки Клинического Состояния (ШОКС–КОВИД). *Кардиология.* 2020; 60 (11): 35–41.
14. Mitra S, Forster-Fromme K, Damms-Machado A, et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics.* 2013; 14 (5): 16.
15. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods.* 2010; 7 (5): 335–6. DOI: 10.1038/nmeth.f.303.
16. DeSantis, TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72: 5069–72.
17. Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics.* 2015; 16 (1): 1056. DOI: 10.1186/s12864-015-2265-y.
18. Gaibani P, D'Amico F, Bartoletti M, et al. The Gut Microbiota of Critically Ill Patients With COVID-19. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 11: 670424. DOI: 10.3389/fcimb.2021.670424.
19. Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, eds. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection.* Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.
20. Tamburini FB, Andermann TM, Tkachenko E, Senchyna F, Banaei N, Bhatt AS. Precision identification of diverse bloodstream pathogens in the gut microbiome. *Nat Med.* 2018; 24 (12): 1809–14. DOI: 10.1038/s41591-018-0202-8.
21. Yeoh YK, Zuo T, Lui GC, et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. *Gut.* 2021; 70 (4): 698–06. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-323020.
22. Danilenko VN, Devyatkin AV, Marsova MV, et al. Common inflammatory mechanisms in COVID-19 and Parkinson's diseases: the role of microbiome, probiotics and postbiotics in their prevention. *Journal of Inflammation Research.* 2021; 14, 6349–81. DOI: 10.2147/JIR.S333887.
23. Poluektova E, Yunes R, Danilenko V. The Putative Antidepressant Mechanisms of Probiotic Bacteria: Relevant Genes and Proteins. *Nutrients.* 2021; 13 (5): 1591. DOI: 10.3390/nu13051591.
24. West CE, Renz H, Jenmalm MC, et al. The gut microbiota and inflammatory noncommunicable diseases: associations and potentials for gut microbiota therapies. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 135 (1): 3–14. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.11.012.
25. Sun Z, Song ZG, Liu C, et al. Gut microbiome alterations and gut barrier dysfunction are associated with host immune homeostasis in COVID-19 patients. *BMC Med.* 2022; 24: 20. DOI: 10.1186/s12916-021-02212-0.
26. Бухарин О. В., Чайникова И. Н., Иванова Е. В. и др. Иммунорегуляторный профиль микросимбионтов кишечного биотопа человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; 4: 42–51.
27. Hursitoglu M, Isiksacan N, Erisimis B, et al. In-vitro cytokine production and nasopharyngeal microbiota composition in the early stage of COVID-19 infection. *Cytokine.* 2022; 149: 155757. DOI: 10.1016/j.cyto.2021.155757.
28. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105 (43): 16731–6. DOI: 10.1073/pnas.0804812105.
29. Zhang M, Qiu X, Zhang H, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* inhibits interleukin-17 to ameliorate colorectal colitis in rats. *PLoS One.* 2014; 9 (10): e109146. DOI: 10.1371/journal.pone.0109146.
30. Zhou L, Zhang M, Wang Y, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase 1. *Inflamm Bowel Dis.* 2018; 24 (9): 1926–40. DOI: 10.1093/ibd/izy182.
31. van der Lelie D, Taghavi S. COVID-19 and the Gut Microbiome: More than a Gut Feeling. *mSystems.* 2020; 5 (4): e00453-20. DOI: 10.1128/mSystems.00453-20.
32. Li L, Zhong Q. Correlation of intestinal microflora with cytokines and Toll-like receptors expression in patients with ulcerative colitis. *Infect Dis Inf.* 2017; 30 (6): 361–4. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2017.06.012.
33. Lu J, Ma SS, Zhang WY, Duan JP. Changes in peripheral blood inflammatory factors (TNF α and IL6) and intestinal flora in AIDS and HIV-positive individuals. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2019; 20 (10): 793–802. DOI: 10.1631/jzus.B1900075.

References

1. Statement on the second meeting of the International Health Regulations Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV). World Health Organization (WHO), 2020. Available from: [https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news-room/detail/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov)) (assessed Dec 15, 2021).
2. Tao W, Zhang G, Wang X, et al. Analysis of the intestinal microbiota in COVID-19 patients and its correlation with the inflammatory factor IL18. *Med Microecol.* 2020; 5: 100023. DOI:10.1016/j.medmic.2020.100023.
3. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020; 20 (6): 363–74. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8.
4. Costela-Ruiz VJ, Illescas-Montes R, Puerta-Puerta JM, Ruiz C, Melguizo-Rodríguez L. SARS-CoV-2 infection: The role of cytokines in COVID-19 disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020; 54: 62–75. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.06.001.
5. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020; 395: 1054–62. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
6. Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J, et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science.* 2020; 369 (6499): 50–54. DOI: 10.1126/science.abc1669.
7. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, et al. Alterations in Gut Microbiota

- of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology*. 2020; 159 (3): 944–55.e8. DOI:10.1053/j.gastro.2020.05.048.
8. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382 (18): 1708–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.
 9. Chan KH, Poon LL, Cheng VC, et al. Detection of SARS coronavirus in patients with suspected SARS. *Emerg Infect Dis*. 2004; 10 (2): 294–9. DOI: 10.3201/eid1002.030610.
 10. Wu HJ, Wu E. The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes*. 2012; 3 (1): 4–14. DOI: 10.4161/gmic.19320.
 11. Gu S, Chen Y, Wu Z, et al. Alterations of the Gut Microbiota in Patients With Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza. *Clin Infect Dis*. 2020; 71 (10): 2669–78. DOI: 10.1093/cid/ciaa709.
 12. Zuo T, Liu Q, Zhang F, et al. Depicting SARS-CoV-2 faecal viral activity in association with gut microbiota composition in patients with COVID-19. *Gut*. 2021; 70 (2): 276–84. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-322294.
 13. Mareev VYu, Begrambekova YuL, Mareev YuV. Kak ocenivat' rezul'taty lechenija bol'nyh s novoj koronavirusnoj infekciej (COVID-19)? Shkala Ocenki Klinicheskogo Sostojanija (ShOKS-KOVID). *Kardiologija*. 2020; 60 (11): 35–41. Russian.
 14. Mitra S, Forster-Fromme K, Damms-Machado A, et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14 (5): 16.
 15. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010; 7 (5): 335–6. DOI: 10.1038/nmeth.f.303.
 16. DeSantis, TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72: 5069–72.
 17. Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1056. DOI: 10.1186/s12864-015-2265-y.
 18. Gaibani P, D'Amico F, Bartoletti M, et al. The Gut Microbiota of Critically Ill Patients With COVID-19. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 670424. DOI: 10.3389/fcimb.2021.670424.
 19. Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, eds. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, 2014.
 20. Tamburini FB, Andermann TM, Tkachenko E, Senchyna F, Banaei N, Bhatt AS. Precision identification of diverse bloodstream pathogens in the gut microbiome. *Nat Med*. 2018; 24 (12): 1809–14. DOI: 10.1038/s41591-018-0202-8.
 21. Yeoh YK, Zuo T, Lui GC, et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. *Gut*. 2021; 70 (4): 698–06. DOI: 10.1136/gutjnl-2020-323020.
 22. Danilenko VN, Devyatkin AV, Marsova MV, et al. Common inflammatory mechanisms in COVID-19 and Parkinson's diseases: the role of microbiome, pharmabiotics and postbiotics in their prevention. *Journal of Inflammation Research*. 2021; 14, 6349–81. DOI: 10.2147/JIR.S333887.
 23. Poluektova E, Yunes R, Danilenko V. The Putative Antidepressant Mechanisms of Probiotic Bacteria: Relevant Genes and Proteins. *Nutrients*. 2021; 13 (5): 1591. DOI: 10.3390/nu13051591.
 24. West CE, Renz H, Jenmalm MC, et al. The gut microbiota and inflammatory noncommunicable diseases: associations and potentials for gut microbiota therapies. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135 (1): 3–14. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.11.012.
 25. Sun Z, Song ZG, Liu C, et al. Gut microbiome alterations and gut barrier dysfunction are associated with host immune homeostasis in COVID-19 patients. *BMC Med*. 2022; 24: 20. DOI: 10.1186/s12916-021-02212-0.
 26. Buharin OV, Chajnikova IN, Ivanova EV, i dr. Immunoreguljatornyj profil' mikrosimbiotov kishhechnogo biotopa cheloveka. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii*. 2018; 4: 42–51. Russian.
 27. Hursitoglu M, Isiksacan N, Erismis B, et al. In-vitro cytokine production and nasopharyngeal microbiota composition in the early stage of COVID-19 infection. *Cytokine*. 2022; 149: 155757. DOI: 10.1016/j.cyto.2021.155757.
 28. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105 (43): 16731–6. DOI: 10.1073/pnas.0804812105.
 29. Zhang M, Qiu X, Zhang H, et al. Faecalibacterium prausnitzii inhibits interleukin-17 to ameliorate colorectal colitis in rats. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e109146. DOI: 10.1371/journal.pone.0109146.
 30. Zhou L, Zhang M, Wang Y, et al. Faecalibacterium prausnitzii Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase 1. *Inflamm Bowel Dis*. 2018; 24 (9): 1926–40. DOI: 10.1093/ibd/izy182.
 31. van der Lelie D, Taghavi S. COVID-19 and the Gut Microbiome: More than a Gut Feeling. *mSystems*. 2020; 5 (4): e00453-20. DOI: 10.1128/mSystems.00453-20.
 32. Li L, Zhong Q. Correlation of intestinal microflora with cytokines and Toll-like receptors expression in patients with ulcerative colitis. *Infect Dis Inf*. 2017; 30 (6): 361–4. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2017.06.012.
 33. Lu J, Ma SS, Zhang WY, Duan JP. Changes in peripheral blood inflammatory factors (TNF α and IL6) and intestinal flora in AIDS and HIV-positive individuals. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2019; 20 (10): 793–802. DOI: 10.1631/jzus.B1900075.