

# ВЛИЯНИЕ *TRITRICHOMONAS* spp. НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ МЫШЕЙ ЛИНИИ *Muc2<sup>-/-</sup>* ПОСЛЕ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ



Е.П. Гончарова, В.Д. Бец, Ю.С. Макушева, Е.А. Литвинова

Центр технологического превосходства, Новосибирский государственный технический университет, г. Новосибирск, Россия

**Резюме.** В то время как патогенные протисты, населяющие репродуктивные пути хорошо изучены, в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) существует конститутивная микробиота протистов, которая является неотъемлемой частью микробиома позвоночных. В настоящее время недостаточно описано влияние протозойных инфекций на иммунную систему хозяина и их потенциальный вклад в нарушение иммунного гомеостаза слизистой оболочки. Протисты, наряду с бактериями и вирусами, являются постоянными представителями микробиоты человека. Основное внимание исследователей сосредоточено на изучении их патогенного влияния в заболеваниях ЖКТ. Однако, их роль в симбиотических отношениях с хозяевами относительно мало изучена. Ранее было показано, что ближайшим человеческим ортологом трихомонады мышей (*Tritrichomonas* spp.) является трихомонада *Dientamoeba fragilis*, которая способна вызывать симптомы воспалительных заболеваний кишечника. В настоящее время неясно, являются ли *Dientamoeba fragilis* и другие виды протистов, такие как *Enteromonas* spp., *Entamoeba dispar*, комменсалами, патобионтами или возбудителями заболеваний кишечного тракта человека. Таким образом, информация о мутуалистических отношениях между протистами, микробиотой ЖКТ и иммунной системой мышей могут быть использованы для понимания взаимоотношений хозяина и простейших у человека. Полученные данные позволяют оценить потенциальный вклад комменсалов простейших в формирования защитных механизмов слизистой оболочки животных и человека. Ранее нами было показано, что антибиотикотерапия приводит к увеличению количества *Tritrichomonas* spp. наряду с уменьшением бактерий в кишечнике мышей с мутацией в гене *Muc2*. Мутация в этом гене приводит к нарушению формирования слизистой оболочки кишечника у мышей. Мыши с мутацией в гене *Muc2* могут быть использованы при изучении воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) человека. В настоящей работе мы провели сравнительное исследование иммунологического статуса мышей *Muc2<sup>-/-</sup>*, инфицированных трихомонадой *Tritrichomonas* spp., после проведения антибиотикотерапии в течение 2 недель с последующим подселением мышам *Lactobacillus johnsonii* и мышей без подселения пробиотических микроорганизмов (самовосстановление). Анализ основных популяций лимфоцитов в крови, селезенке и лимфатических узлах показал, что подселение *Lactobacillus johnsonii* после антибиотикотерапии приводит к достоверному увеличению популяции Т-лимфоцитов в крови и в селезенке, и увеличению количества хелперных Т-клеток в лимфатических узлах мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* по сравнению с группой мышей без подселения пробиотических микроорганизмов.

**Ключевые слова:** муцин 2, иммунитет, протозойная инфекция, кишечник, *Tritrichomonas* spp., антибиотики.

#### Адрес для переписки:

Бец Виктория Дмитриевна  
630073, Россия, г. Новосибирск, пр. К. Маркса, 20,  
Центр технологического превосходства Новосибирского  
государственного технического университета.  
Тел.: 8 (913) 797-73-95.  
E-mail: bets@svd.bio@gmail.com

#### Contacts:

Victoria D. Bets  
630073, Russian Federation, Novosibirsk, K. Marx pr., 20,  
Center for Technological Excellence, Novosibirsk State  
Technical University.  
Phone: +7 (913) 797-73-95.  
E-mail: bets@svd.bio@gmail.com

#### Для цитирования:

Гончарова Е.П., Бец В.Д., Макушева Ю.С., Литвинова Е.А. Влияние *Tritrichomonas* spp. на иммунную систему мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>* после антибиотикотерапии // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 3. С. 519–524. doi: 10.15789/2220-7619-IOT-16746

#### Citation:

Goncharova E.P., Bets V.D., Makusheva Yu.S., Litvinova E.A. Impact of *Tritrichomonas* spp. on the immune system of *Muc2<sup>-/-</sup>* mice after antibiotic therapy // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i imunitet, 2024, vol. 14, no. 3, pp. 519–524. doi: 10.15789/2220-7619-IOT-16746

Анализ иммунных клеток и протозоя в фекалиях лабораторных животных проведен при поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) № 23-26-00270.

The analysis of immune cells and protozoa in faeces of laboratory animals was supported by Russian Science Foundation (RSF) grant No. 23-26-00270.

## **IMPACT OF *TRITRICHOMONAS* spp. ON THE IMMUNE SYSTEM OF Muc2<sup>-/-</sup> MICE AFTER ANTIBIOTIC THERAPY**

**Goncharova E.P., Bets V.D., Makusheva Yu.S., Litvinova E.A.**

*Center for Technological Excellence, Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russian Federation*

**Abstract.** While pathogenic protists inhabiting the reproductive tract are well studied, the gastrointestinal (GI) tract contains a constitutive protist microbiota that is an integral part of the vertebrate microbiome. Currently, the effect of protozoan infections on the host immune system and their potential contribution to disruption of mucosal immune homeostasis are not well understood. Protists, along with bacteria and viruses, are permanent representatives of the human microbiota. The main attention of researchers is focused on studying their pathogenic role in gastrointestinal diseases. However, their role in symbiotic relationships with hosts is relatively little studied. It was previously shown that the closest human ortholog of mouse *Trichomonas* (*Tritrichomonas* spp.) is *Dientamoeba fragilis*, which can cause symptoms of inflammatory bowel disease. It is currently unclear whether *Dientamoeba fragilis* and other protist species such as *Enteromonas* spp., *Entamoeba dispar* are commensals, pathogens, or pathogens of the human intestinal tract. Thus, information about the mutualistic relationships between protists, the gastrointestinal microbiota, and the immune system of mice can be used to understand host-protozoan relationships in humans. The data obtained allow us to evaluate the potential contribution of commensal protozoa in the formation of protective mechanisms of the mucous membrane of animals and humans. We have previously shown that antibiotic therapy leads to an increase in the number of *Tritrichomonas* spp. along with a reduction in bacteria in the gut of mice with a mutation in the Muc2 gene. A mutation in this gene leads to impaired formation of the intestinal mucosa in mice. Mice with a mutation in the Muc2 gene can be used as model to study human inflammatory bowel diseases (IBDs). In this work, we conducted a comparative study of the immunological status of Muc2<sup>-/-</sup> mice harboring *Tritrichomonas* spp. after antibiotic therapy for 2 weeks followed by gavage of *Lactobacillus johnsonii* into mice and mice without introduction of probiotic microorganisms (self-recovery). Analysis of the main populations of lymphocytes in the blood, spleen and lymph nodes showed that the introduction of *Lactobacillus johnsonii* after antibiotic therapy leads to a significant increase in the population of T-lymphocytes in the blood and spleen, and an increase in the number of helper T cells in the lymph nodes of Muc2<sup>-/-</sup> mice compared to mice without the addition of probiotic microorganisms.

**Key words:** *mucin 2, immunity, protozoal infection, intestines, Tritrichomonas spp., antibiotics.*

### **Введение**

В кишечнике млекопитающих обитает широкий консорциум микроорганизмов: различные типы вирусов, прокариотические бактерии и эукариотические микроорганизмы, включающих множество грибов, гельминтов и простейших. Трихомонады относятся к типу *Parabasalia*, классу *Trichomonadea*, отряду *Trichomonadida* [1]. Эти простейшие живут в анаэробно-микроаэрофильных, покрытых слизистой оболочкой, нестерильных полостях органов, таких как желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) и репродуктивные пути. Как и у большинства анаэробных простейших, у трихомонад отсутствуют многие собственные пути биосинтеза, и для выживания они используют метаболиты, которые нарабатывают клетки хозяина. Инфекция, связанная с трихомонадами, является рецидивирующей, без стойкого иммунитета, часто бессимптомной. Трихомонады паразитируют путем адгезии к эпителиальным клеткам репродуктивных путей или ЖКТ. Известно, что некоторые представители *Lactobacillus* spp. препятствуют адгезии трихомонад к эпителиальным клеткам, а некоторые представители, наоборот, способствуют [6]. Однако влияние этих видов

на организм хозяина и их потенциальный вклад в иммунный гомеостаз слизистой кишечника остаются малоизученными. Ранее было показано, что ближайшим человеческим ортологом трихомонад мышей (*Tritrichomonas* spp.) является трихомонада *Dientamoeba fragilis*, которая способна вызывать симптомы воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) [9]. В настоящее время нет достоверной информации являются ли *Dientamoeba fragilis* и другие виды протистов, такие как *Enteromonas* spp., *Entamoeba dispar*, патогенными возбудителями заболеваний кишечного тракта человека или комменсалами. Новые данные о влиянии *Tritrichomonas* spp. на микробиоту ЖКТ и иммунную систему у мышей могут быть использованы для понимания взаимоотношений хозяина и простейших у человека. Вовлечение в понимание этих взаимодействий представителей нормальной микробиоты *Lactobacillus johnsonii*, которые известно, что препятствуют адгезии трихомонад к эпителиальным клеткам, поможет оценить их вклад в активацию иммунитета. В последующем влияние комменсалов простейших на формирование защитных механизмов в слизистой оболочке необходимо будет учитывать при определении терапевтических схем лечения ВЗК.

## Материалы и методы

Восьминедельных мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* содержали в индивидуально вентилируемых клетках (Optimice, США) с постоянным доступом к пище и воде при 22–25°C с 14 ч:10 ч циклом свет-темнота (световая фаза с 1:00 до 15:00). Все животные получали нестерилизованный стандартный рацион для грызунов (Р-22, БиоПро, Новосибирск), питьевую воду. После недели акклиматизации мыши были разделены на 2 группы (в среднем по 5 животных в группе), каждая группа получала коктейль антибиотиков в течение 14 дней. Коктейль антибиотиков готовили в питьевой воде с концентрацией: гентамицин 0,5 г/л, амоксицилин 0,5 г/л, ванкомицин 1 г/л и метронидазол 0,5 г/л. После завершения курса антибиотикотерапии экспериментальная группа получала *L. johnsonii* ( $10^8$  КОЕ/мышь) внутрижелудочно три раза в неделю в течение трех недель. Группа мышей без подселения пробиотических микроорганизмов (самовосстановление), также получавшая коктейль антибиотиков, далее получала воду. Анализ фенотипа лимфоцитов проводили с помощью проточной цитометрии. Клетки выделяли из селезенки и лимфоузлов с помощью сита для клеток, промывали PBS, для анализа брали  $1 \times 10^5$  клеток. Клетки крови обрабатывали буфером, лизирующим эритроциты, промывали PBS. Макрофаги выделяли из перitoneальной полости животных. После этого клетки метили моноклональными антителами, коньюгированными с флуорохромами, к поверхностным антигенам (BioLegend, США) в течение 30 мин при комнатной температуре в темноте. Для анализа клеток использовали антитела анти-CD45-Pacific Blue анти-CD3-PE анти-CD4-FITC анти-CD8-PE/Cyanine7 анти-CD19-FITC анти-CD45RB-PE анти-CD25-PerCP/Cyanine5.5 анти-Foxp3-APC анти-CD38-PE/Cyanine7 анти-CD209-PE анти-Arg-APC анти-INOS-PE. Клетки промывали PBS и анализировали на проточном цитометре FACS Canto II (Becton Dickinson, США).

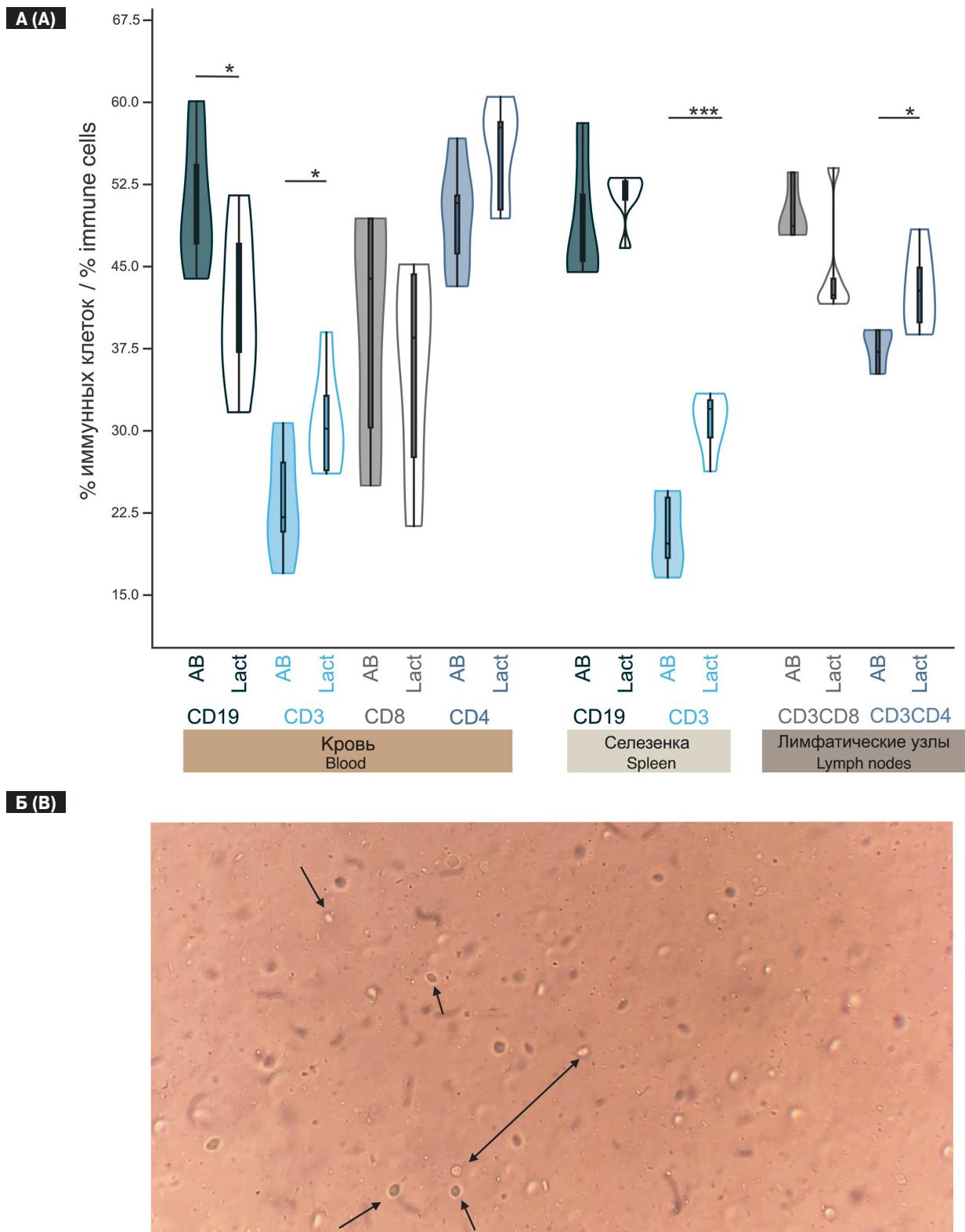
Для выделения простейших из фекалий использовали следующий протокол: свежесобранные фекалии от мышей помещали в 5 мл холодного раствора PBS, тщательно фильтровали (70 мкм), затем центрифугировали в течение 5 минут при 1200 грм +4°C и промывали холодным PBS. Далее образец наносили на градиент (Percoll 40%/80%) и центрифугировали в течение 20 минут при 1000g. После отбирали содержимое интерфазы, отмывали два раза холодным PBS, микроскопировали с помощью метода «живая капля».

Данные в тексте представлены в виде средних  $\pm$  SEM. Анализ выполняли с помощью статистики в Past 4.15. Выборки данных срав-

нивали между группами с помощью One-way PERMANOVA. Значение  $p < 0,05$  считалось значимым.

## Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано, что антибиотикотерапия приводит к увеличению количества *Tritrichomonas* spp. наряду с уменьшением бактерий в кишечнике мышей с мутацией в гене *Muc2* [2]. При этом у таких животных снижался уровень *Lactobacillus* spp. в ЖКТ. В настоящей работе анализ фекалий интактных мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>* показал, что у 100% животных в фекалиях была обнаружена трихомонада *Tritrichomonas* spp. Для оценки иммунологического статуса мышей *Muc2<sup>-/-</sup>*, в фекалиях которых была обнаружена *Tritrichomonas* spp., были сформированы две группы мышей ( $n = 4$ –5 голов). В течение двух недель мыши обеих групп получали коктейль из антибиотиков в питьевой воде. После проведения антибиотикотерапии мышам первой группы подселяли пробиотический штамм *L. johnsonii* ( $10^8$  КОЕ/мышь), который ранее был выделен и охарактеризован от мышей дикого типа (C57BL/6) без признаков воспаления и наличия у них *Tritrichomonas* spp. Мышам второй группы не подселяли пробиотические микроорганизмы (самовосстановление). Через две недели после отмены антибиотиков *Tritrichomonas* spp. была обнаружена у всех животных в группе самовосстановления микробиоты. Интересно, что у мышей, получавших *L. johnsonii*, протозойная инфекция при микроскопическом методе исследования не выявлялась на протяжении всего периода подселения пробиотиков. Полученные данные позволяют предположить, что пробиотические бактерии сдерживают развитие протозойных инфекций по сравнению с группой самовосстановления. Известно, что лактобактерии используют как молекулы широкого спектра действия (например, молочную кислоту), так и патогенспецифические молекулы, ингибирующие патогены [8]. Так же ингибирующую активность штаммов *Lactobacillus* против *Trichomonas vaginalis* обнаружили Ниха Фукан с соавт. [7]. Было показано, что фактор, способствующий агрегации (APF-2) штамма *Lactobacillus gasseri*, в значительной степени способствует ингибированию адгезии *Trichomonas vaginalis* к эпителиальным клеткам человека. Также, известно, что лактобактерии снижают адгезию *Trichomonas vaginalis*, к эпителиальным клеткам хозяина на 60% [6]. Два штамма *L. johnsonii* снижали адгезивную способность *Trichomonas vaginalis* к эпителиальным клеткам. Пробиотические штаммы *Lactobacillus* могут влиять на патоген напрямую, препятствуя прикреплению или инвазии клетки-хозяина, либо косвенно, регулируя экс-



**Рисунок. А.** Процент разных популяций лимфоцитов ( $CD45^+CD19^+$ ,  $CD45^+CD3^+$ ,  $CD45^+CD3^+CD8^+$ ,  $CD45^+CD3^+CD4^+$ ) крови, селезенки и мезентериальных лимфатических узлов мышей после самовосстановления микробиоты (AB) и при применении пробиотического штамма *L. johnsonii* (Lact). \*, \*\*\* —  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$  межгрупповое сравнение One-way PERMANOVA test.

**Б.** *Tritrichomonas* spp. в живой капле, выделенная из кишечника мышей *Muc2*<sup>-/-</sup> (указана стрелками)

Figure. A. Percentage of different lymphocyte populations ( $CD45^+CD19^+$ ,  $CD45^+CD3^+$ ,  $CD45^+CD3^+CD8^+$ ,  $CD45^+CD3^+CD4^+$ ) in the blood, spleen and mesenteric lymph nodes of mice after microbiota self-healing (AB) and using the probiotic strain *L. johnsonii* (Lact). \*, \*\*\* —  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$  intergroup comparison One-way PERMANOVA test.  
 B. *Tritrichomonas* spp. in a live drop isolated from the intestines of *Muc2*<sup>-/-</sup> mice (indicated by arrows)

прессию цитокинов, синтез муцина в слизистой оболочке хозяина. Таким образом, наблюдение о том, что штаммы *Lactobacillus* способны ингибировать развитие протозойной инфекции подтверждает полученные нами данные.

Конститутивная микробиота протистов является неотъемлемой частью микробиома позвоночных. Влияние *Tritrichomonas* spp. на иммунную систему хозяина в настоящее время недостаточно изучено. В данной работе было проведено исследование влияния трихомонады *Tritrichomonas* spp. на иммунную систему мышей *Muc2<sup>-/-</sup>*, получавших *L. johnsonii* (внутрижелудочно) и мышей без подселения пробиотических микроорганизмов (самовосстановление). После отмены антибиотиков у всех животных в группе самовосстановления микробиоты была обнаружена *Tritrichomonas* spp. Однако в этой группе мышей процент CD4<sup>+</sup>CD45RB<sup>high</sup> T-клеток, способных индуцировать хроническое воспаление кишечника [10] достоверно не отличался от процента таких же клеток у неинфицированных мышей в группе, получавших пробиотический штамм *L. johnsonii*. Процент перитонеальных макрофагов M1 типа (CD38<sup>+</sup>; iNOS<sup>+</sup>) и M2 типа (CD209<sup>+</sup>; Arg<sup>+</sup>) также не отличался между исследуемыми группами. Этот факт свидетельствует об отсутствии развития острой воспалительной реакции в группе самовосстановления мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* в фекалиях, которых была обнаружена трихомонада. Таким образом, можно предположить, что *Tritrichomonas* spp. не вызывает развития воспалительной реакции и скорее всего является условно патогенной. Полученные нами данные совпадают с результатами, представленными в книге Baker [3].

Анализ содержания разных популяций лимфоцитов в крови, селезенке и мезентеральных лимфатических узлах у мышей в группах с подселением *L. johnsonii* после антибиотикотерапии и самовосстановления микробиоты представлен на рис. Процент Т-лимфоцитов в крови и селезенке был достоверно выше в группе, которая получала пробиотический штамм *L. johnsonii* в течение трех недель после антибиотикотерапии, по сравнению с группой мышей *Muc2<sup>-/-</sup>*, с восстановлением микробиоты без применения пробиотиков. В крови процент В-клеток был достоверно ниже в группе с подселением пробиотического штамма *L. johnsonii* и отсутствием *Tritrichomonas* spp. относительно мышей, у которых на протяжении всего периода самовосстановления микробиоты в фекалиях детектировали *Tritrichomonas* spp. Таким образом, заселение лактобактерий, которые препятствуют развитию трихомонад в ЖКТ, способствует повышению процента Т-лимфоцитов и снижению В-лимфоцитов. Хорошо известно, что лимфоциты мигрируют из селезенки в региональные

лимфатические узлы, где они активируются. Было проведено сравнение профиля иммунных клеток в мезентеральных лимфатических узлах у мышей *Muc2<sup>-/-</sup>* двух групп. Мышей линии *Muc2<sup>-/-</sup>*, которые получали пробиотический штамм *L. johnsonii* и не имели *Tritrichomonas* spp. в фекалиях, в лимфоузлах наблюдался больший процент Т-хелперов по сравнению с животными с самовосстановлением микробиоты. Несмотря на это, достоверных различий по проценту цитотоксических Т-клеток в лимфоузлах между группами мышей носителями *Tritrichomonas* spp. и без *Tritrichomonas* spp. обнаружено не было. Это подтверждает отсутствие активации провоспалительной реакции в ответ на восстановление микробиоты вместе с *Tritrichomonas* spp. у мышей с нарушением барьерного слоя кишечника (мышей *Muc2<sup>-/-</sup>*). Ранее было показано, что *Tritrichomonas musculus* активируют эпителиальные клетки, которые, стимулируя посредством интерлейкина-18 дендритные клетки, способствуют развитию Т-хелперов 1 и 17 типа иммунного ответа. Такой механизм обеспечивает формирование эффективной защиты от бактериальных инфекций [5]. Ранее, в экспериментах *in vitro* мы показали, что *L. johnsonii* способна стимулировать активацию дендритных клеток [4]. Чтобы исключить эффект антибиотикотерапии и подтвердить влияние *Tritrichomonas* spp. на изменение процента Т-хелперов в мезентеральных лимфатических узлах, была проанализирована популяция клеток лимфоузлов интактных мышей *Muc2<sup>-/-</sup>*, среди которых 75% особей имели *Tritrichomonas* spp. Процент цитотоксических клеток мышей этой группы составил 46,9±5,2, что достоверно не отличается от группы с самовосстанавливающейся микробиотой. Процент хелперных Т-клеток был 41,1±4,2 в группе интактных мышей и не отличался от процента клеток мышей из группы самовосстановления.

Итак, можно предположить, что выявляемая у мышей *Tritrichomonas* spp. может быть условно-патогенной. Восстановление микробиоты совместно с *Tritrichomonas* spp. не вызывает развитие острой воспалительной реакции и даже не влияет на другие популяции лимфоцитов. В свою очередь добавление пробиотического штамма *L. johnsonii* повышает процент Т-клеток в крови и селезенке и увеличивает процент Т-хелперов в региональных лимфатических узлах у мышей с нарушенной барьерной функцией из-за отсутствия муцина-2. Требуется проведение дополнительных экспериментов для изучения механизма действия условно-патогенных протозоя на иммунитет слизистого слоя кишечника человека. В последующем необходимо будет учитывать такое влияние простейших на иммунитет при определении терапевтических схем лечения ВЗК.

## Список литературы/References

1. Aquino M.F.K., Hinderfeld A.S., Simoes-Barbosa A. *Trichomonas vaginalis*. *Trends Parasitol.*, 2020, vol. 36, no. 7, pp. 646–647. doi: 10.1016/j.pt.2020.01.010
2. Achasova K.M., Kozhevnikova E.N., Borisova M.A., Litvinova E.A. Fucose Ameliorates Tritrichomonas sp.-Associated Illness in Antibiotic-Treated Muc2-/- Mice. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 19: 10699. doi: 10.3390/ijms221910699
3. Baker D.G. Parasites of Rats and Mice. In: *Flynn's Parasites of Laboratory Animals: Second Edition*; 2008, pp. 303–397. doi: 10.1002/9780470344552.ch11
4. Blinova E.A., Goncharova E.P., Kalmykova G.V., Akulova N.I., Litvinova E.A. Lactobacillus johnsonii modulation of bone marrow-derived dendritic cells generated from mice with null mutation of the Muc2 gene. *Medical Immunology (Russia)*, 2023, vol. 25, no. 3, pp. 587–594. doi: 10.15789/1563-0625-LJM-2831
5. Chudnovskiy A., Mortha A., Kana V., Kennard A., Ramirez J.D., Rahman A., Remark R., Mogno I., Ng R., Gnjatic S., Amir E.D., Solovyov A., Greenbaum B., Clemente J., Faith J., Belkaid Y., Grigg M.E., Merad M. Host-Protozoan Interactions Protect from Mucosal Infections through Activation of the Inflammasome. *Cell*, 2016, vol. 167, no. 2, pp. 444–456.e14. doi: 10.1016/j.cell.2016.08.076
6. Phukan N., Parsamand T., Brooks A.E., Nguyen T.N., Simoes-Barbosa A. The adherence of *Trichomonas vaginalis* to host ectocervical cells is influenced by lactobacilli. *Sex. Transm. Infect.*, 2013, vol. 89, no. 6, pp. 455–459. doi: 10.1136/sextrans-2013-051039
7. Phukan N., Brooks A.E.S., Simoes-Barbosa A. A Cell Surface Aggregation-Promoting Factor from *Lactobacillus gasseri* Contributes to Inhibition of *Trichomonas vaginalis* Adhesion to Human Vaginal Ectocervical Cells. *Infect. Immun.*, 2018, vol. 86, no. 8: e00907-17. doi: 10.1128/IAI.00907-17
8. Spurbeck R.R., Arvidson C.G. Lactobacilli at the front line of defense against vaginally acquired infections. *Future Microbiol.*, 2011, vol. 6, no. 5, pp. 567–582. doi: 10.2217/fmb.11.36
9. Stark D., Garcia L.S., Barratt J.L., Phillips O., Roberts T., Marriott D., Harkness J., Ellis J.T. Description of *Dientamoeba fragilis* cyst and precystic forms from human samples. *J. Clin. Microbiol.*, 2014, vol. 52, no. 7, pp. 2680–2683. doi: 10.1128/JCM.00813-14
10. Steinbach E.C., Gipson G.R., Sheikh S.Z. Induction of Murine Intestinal Inflammation by Adoptive Transfer of Effector CD4+ CD45RB high T Cells into Immunodeficient Mice. *J. Vis. Exp.*, 2015, no. 98: 52533. doi: 10.3791/52533

**Авторы:**

**Гончарова Е.П.**, к.б.н., младший научный сотрудник Центра технологического превосходства Новосибирского государственного технического университета, г. Новосибирск, Россия;  
**Бец В.Д.**, младший научный сотрудник Центра технологического превосходства Новосибирского государственного технического университета, г. Новосибирск, Россия;  
**Макушева Ю.С.**, младший научный сотрудник интеграционной лаборатории «Биоинженерия» Новосибирского государственного технического университета, г. Новосибирск, Россия;  
**Литвинова Е.А.**, к.б.н., научный сотрудник Центра технологического превосходства Новосибирского государственного технического университета, г. Новосибирск, Россия.

Поступила в редакцию 31.03.2024  
 Принята к печати 05.04.2024

**Authors:**

**Goncharova E.P.**, PhD (Biology), Junior Researcher, Center for Technological Excellence, Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russian Federation;  
**Bets V.D.**, Junior Researcher, Center for Technological Excellence, Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russian Federation;  
**Makusheva Yu.S.**, Junior Researcher, Integration laboratory "Bioengineering", Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russian Federation;  
**Litvinova E.A.**, PhD (Biology), Researcher, Center for Technological Excellence, Novosibirsk State Technical University, Novosibirsk, Russian Federation.

Received 31.03.2024  
 Accepted 05.04.2024