

Первый опыт терапии полирезистентных инфекционных осложнений, ассоциированных с *Clostridium difficile* и *Klebsiella pneumoniae*, методом трансплантации фекальной микробиоты у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

О.В.Голощапов¹, М.А.Кучер¹, М.А.Суворова², Р.В.Клементьева¹, А.А.Щербаков¹,
А.Н.Швецов¹, И.С.Моисеев¹, А.Б.Чухловин¹, Б.В.Афанасьев¹

¹НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой,
Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²Научно-исследовательская лаборатория Explana, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) – эффективный метод лечения онкогематологических заболеваний. Особенностью пациентов при ТГСК являются инфекционные осложнения, вызванные полирезистентными штаммами микроорганизмов. Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) может приводить к эрадикации патогенных микроорганизмов.

Цель. Повысить эффективность лечения полирезистентных инфекционных осложнений, ассоциированных с *Clostridium difficile* и *Klebsiella pneumoniae*, после аллогенной ТГСК.

Пациенты и методы. В исследование включено 3 пациента после аллогенной ТГСК, которым была выполнена ТФМ от аллогенного донора с целью терапии антибиотикорезистентного псевдомембранозного колита, ассоциированного с *Clostridium difficile*. Донорами микробиоты были родственники пациентов. Подготовка к ТФМ включала терапию пробиотиками и отмену антибактериальной терапии. Микробиота донора вводилась последовательно в двенадцатиперстную и в слепую кишку.

Результаты. У всех пациентов после ТФМ отмечалось появление микробиоты донора, эрадикация полирезистентной *Klebsiella pneumoniae* и *Clostridium difficile*, купирование синдрома мальдигестии и мальабсорбции.

Заключение. ТФМ может служить безопасным и эффективным методом лечения полирезистентных инфекционных осложнений у пациентов после ТГСК.

Ключевые слова: трансплантация костного мозга, трансплантация фекальной микробиоты, *Clostridium difficile*

Для цитирования: Голощапов О.В., Кучер М.А., Суворова М.А., Клементьева Р.В., Щербаков А.А., Швецов А.Н., Моисеев И.С., Чухловин А.Б., Афанасьев Б.В. Первый опыт терапии полирезистентных инфекционных осложнений, ассоциированных с *Clostridium difficile* и *Klebsiella pneumoniae*, методом трансплантации фекальной микробиоты у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Инфекционные болезни. 2017; 15(3): 65–74. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-3-65-74

A first experience of therapy of multi-resistant infectious complications associated with *Clostridium difficile* and *Klebsiella pneumoniae*, using a method of fecal microbiota transplantation in patients after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation

O.V.Goloshchapov¹, M.A.Kucher¹, M.A.Suvorova², R.V.Klement'eva¹, A.A.Scherbakov¹,
A.N.Shvetsov¹, I.S.Moiseev¹, A.B.Chukhlovina¹, B.V.Afanas'ev¹

Для корреспонденции:

Кучер Максим Анатольевич, кандидат медицинских наук, руководитель
отдела клинического питания НИИ детской онкологии, гематологии
и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12

Телефон: (812) 338-6260

E-mail: doctorkucher@yandex.ru

Статья поступила 16.01.2017 г., принята к печати 12.04.2017 г.

For correspondence:

Maksim A. Kucher, MD, PhD, head of the department of clinical
nutrition, R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology,
Haematology and Transplantation

Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation

Phone: (812) 338-6260

E-mail: doctorkucher@yandex.ru

The article was received 16.01.2017, accepted for publication 12.04.2017

¹R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantology, St. Petersburg, Russian Federation;

²Research Laboratory Explana, St. Petersburg, Russian Federation

Allogeneic hemopoietic stem cell transplantation (HSCT) is an effective method of treating oncohematological diseases. In HSCT, patients have specific infectious complications caused by multi-resistant strains of microorganisms. Fecal microbiota transplantation (FMT) might lead to eradication of pathogenic microorganisms.

The objective. To enhance the effectiveness of treating multi-resistant infectious complications associated with *Clostridium difficile* and *Klebsiella pneumoniae*, after allogeneic HSCT.

Patients and methods. The study included 3 patients after allogeneic HSCT, in whom FMT was performed from an allogeneic donor for treatment of antibiotic-resistant pseudomembranous colitis associated with *Clostridium difficile*. Donors of microbiota were the patients' family members. Preparation for FMT included probiotic therapy and cancellation of antibacterial therapy. Donor microbiota was introduced successively into the duodenum and the cecum.

Results. In all patients after FMT, we noted the appearance of donor microbiota, eradication of multi-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Clostridium difficile*, and elimination of maldigestion and malabsorption syndromes.

Conclusion. FMT might serve as a safe and effective method of treating multi-resistant infectious complications in patients after HSCT.

Key words: bone marrow transplantation, fecal microbiota transplantation, *Clostridium difficile*

For citation: Goloshchapov O.V., Kucher M.A., Suvorova M.A., Klement'eva R.V., Scherbakov A.A., Shvetsov A.N., Moiseev I.S., Chukhlov A.B., Afanas'ev B.V. A first experience of therapy of multi-resistant infectious complications associated with *Clostridium difficile* and *Klebsiella pneumoniae*, using a method of fecal microbiota transplantation in patients after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. Infekc. bolezni (Infectious diseases). 2017; 15(3): 65–74. (In Russian). DOI: 10.20953/1729-9225-2017-3-65-74

Микробиота кишечника человека – это совокупность облигатных и факультативных микроорганизмов, способных вызывать заболевания при снижении иммунологической резистентности макроорганизма. По своему расположению в кишке выделяют 2 типа микроорганизмов: просветную микробиоту, которая располагается в кишечнике на неперевариваемых пищевых волокнах, и мукозную, прилегающую к эпителиальным клеткам кишечника в составе пристеночного муцина. Совместно просветная и мукозная микробиота оказывают влияние на состояние организма человека за счет регулирующих взаимодействий и выполнения многих метаболических функций, таких как выведение токсинов, подавление роста патогенных микроорганизмов, регуляция иммунитета, регенерация эпителия, синтез витаминов В и К, некоторых незаменимых аминокислот, обмен жиров и т.д. Доминирующее количество бактерий кишечника представлено 5 типами: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Verrucomicrobia*. Среди которых 2 рода – *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* – по настоящим представлениям играют определяющую роль в развитии микробиоты с момента рождения человека.

Ключевыми аспектами в поддержании функциональной состоятельности, постоянства состава микробиоты кишечника и регуляции локальной реактивности иммунной системы считают следующие: в просвете кишечника – синтез короткоцепочечных жирных кислот (ацетат, пропионат, бутират) и антимикробных пептидов, регуляция образования Т-регуляторных клеток (Treg) и IgA; на уровне собственной пластинки – поддержание метаболизма трансформирующего фактора роста-β (ТФР-β), интегрин α-E (CD103+), дендритных клеток, Treg и Т-хелпера 17 (Th17), продуцирующего интерлейкин-10 (ИЛ-10), ИЛ-22; регенеративного фактора эпителиальных клеток; на уровне мезентериальных лимфатических узлов – взаимодействие с врожденными лимфоидными клетками через рецептор ядра RORγt, что приводит к снижению локального воспаления [1]. Сохранение данных взаимодействий позволяет сдерживать рост условно-пато-

генной микробиоты, элиминировать эндогенные и экзогенные патогены, поддерживать структурную целостность эпителия кишечника.

При различных долговременных и кратковременных стимулах возможно изменение количественного и качественного состава микробиоты, при котором развивается ее функциональная недостаточность, что может оказывать влияние на развитие патологических состояний макроорганизма. Существуют факторы, позитивно и негативно воздействующие на микробиоту человека: к 1-й группе относят питание с включением в рацион зерновых культур, орехов, фруктов, овощей; роды через естественные родовые пути; грудное вскармливание; профилактическое применение пре-, про- и/или метабиотиков. Вторую группу, оказывающую негативное влияние, составляют злоупотребление мясными продуктами и продуктами, прошедшими технологическую подготовку (полуфабрикаты, консервы и т.д.); применение антибиотиков и цитостатических препаратов, что в конечном итоге приводит к снижению разнообразия облигатных микроорганизмов, особенно у лиц пожилого возраста [2].

До настоящего времени основной проблемой диагностики качественного состава микробиоты кишечника остается неэффективность классических бактериологических методов в обнаружении анаэробных микроорганизмов. Внедрение в клиническую практику процедуры трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) и ее научное обоснование стало во многом возможным благодаря развитию методов идентификации микроорганизмов: полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени и, в большей степени, секвенирования генома бактерий. Реализация технологии секвенирования, основанной на анализе 16S субъединицы рибосомальной РНК бактерий и выявлении их изолятов, позволила точно определять состав микробиоты донора и реципиента и таким образом осуществлять поиск наиболее подходящего донора и оценивать результаты лечения [3].

Секвенирование включает 4 последовательных этапа: выделение микробной ДНК из фекалий, амплификация с по-

мощью ПЦР V4-5-участков гена 16S рПНК, секвенирование, сравнение полученных результатов с базой данных образцов, например NCBI Sequence Read Archive database.

В случае клинической необходимости быстрой и радикальной смены состава микробиоты основным методом является трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ), которая рассматривается как возможность замены поврежденной микробиоты на функционально полноценную. На сегодняшний день ТФМ – это высокотехнологичный и быстроразвивающийся метод лечения кишечных инфекций, ассоциированных с *Clostridium (Cl.) difficile*, основанный на замещении микробиоты реципиента микробиотой аллогенного донора [4]. ТФМ также позволяет изменять не только микробиоту пищеварительного тракта, но и микробиоту в других локусах (зев, моча, легкие и другие) на маловирулентную, малопатогенную и чувствительную к антибиотикам. Этот эффект может использоваться с целью эрадикации патогенных антибиотикорезистентных штаммов на основе конкуренции и антагонизма микроорганизмов.

Механизмы действия ТФМ включают: конкуренцию за питательные вещества, прямое ингибирование роста патологического возбудителя, модуляцию иммунной системы хозяина путем взаимодействия с нормальной микробиотой. ТФМ является более эффективной, чем применение пробиотиков в восстановлении измененной микробиоты кишечника, так как последние не способны колонизировать кишечник на длительный период.

Характерным изменением микробиоты при воспалительных заболеваниях кишечника является снижение разнообразия облигатных микроорганизмов, в том числе дефицит бактерий двух типов: *Firmicutes* и *Bacteroidetes* [5]. В конечном итоге это приводит к дефициту образования *Faecalibacterium prausnitzii* бутирата – локального противовоспалительного агента, действующего посредством ингибирования ИЛ-8 [6].

Увеличение количества научных публикаций, описывающих успешные случаи ТФМ у человека при различных заболеваниях, привело к тому, что в 2012 г. в США был создан первый банк фекальных образцов для лечения пациентов методом ТФМ. В настоящее время банк сотрудничает с более чем 750 клиниками во всех 50 штатах США для возможности постоянного доступа к трансплантату фекальной микробиоты человека. Метод ТФМ регулируется Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов (Food and Drug Administration – FDA).

В 2013 г. FDA одобрил использование ТФМ в качестве терапевтического метода лечения рефрактерной инфекции, ассоциированной с *Cl. difficile*, в рамках контролируемых клинических исследований («Enforcement policy regarding investigational new drug requirements for use of fecal microbiota for transplantation to treat *Cl. difficile* infection not responsive to standard therapies») [7].

В 2014 г. применение ТФМ было одобрено Европейской организацией по лечению болезни Крона и колита (ЕССО – European Crohn's and colitis organization) как метод лечения воспалительных заболеваний кишечника, ассоциированных с *Cl. difficile*, среди которых болезнь Крона, неспецифический язвенный колит [8].

Также на основании полученных научных данных ТФМ была включена в рекомендации Европейского общества

клинической микробиологии и инфекционных заболеваний (ЕСМID) по лечению ванкомицинрезистентной инфекции, вызванной *Cl. difficile*, с уровнем доказательности AI [9]. В отношении других резистентных бактерий опубликованы результаты одноцентровых исследований ТФМ и идет процесс разработки рекомендаций.

В 2014 г. метаанализ результатов нескольких клинических исследований показал, что ТФМ была эффективной в 87% случаев у 536 пациентов с диареей на фоне инфекции *Cl. difficile* с резистентностью к предшествующей терапии метронидазолом и ванкомицином [10]. Важным фактором, влияющим на результаты лечения, являлся метод доставки трансплантата: в желудок (81% успешных случаев), в двенадцатиперстную кишку (86%), в восходящую часть толстой кишки с помощью фиброколоноскопии (93%), в нисходящую часть толстой кишки посредством глубокой клизмы (84%).

Последующий обзор литературы в 2015 г. на примере 45 исследований (112 пациентов) показал недостаточную эффективность ТФМ при воспалительных заболеваниях кишечника – 0–68% случаев достижения ремиссии [11]. Авторы отмечают, что, возможно, неудачи ТФМ связаны, с одной стороны, с состоянием микробиоты донора в виде сниженного разнообразия микроорганизмов, с другой стороны – тяжелым состоянием пациентов с высокими значениями индекса шкалы клиники Мейо.

Попытки применения ТФМ проводятся и в случае заболеваний, не связанных с инфекционным поражением кишечника, при которых были выявлены нарушения в составе микробиоты и дисбаланс иммунной системы (синдром раздраженной кишки, ревматоидный артрит, сахарный диабет 2-го типа, аутизм, синдром хронической усталости, рассеянный склероз, болезнь Паркинсона) [12]. Описаны единичные случаи терапии генерализованных инфекционных заболеваний при синдроме полиорганной недостаточности при сепсисе и для элиминации ванкомицинрезистентного энтерококка [13].

Для выполнения успешной ТФМ необходимо соблюдение нескольких факторов. Прежде всего, тщательный подбор донора, который должен соответствовать, с одной стороны, классическим требованиям для аллогенного донора – быть инфекционно безопасным для реципиента, не иметь сопутствующей патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и онкологических заболеваний. С другой стороны, обладать разнообразной микробиотой без наличия в стуле патогенных микроорганизмов.

Второй важный фактор успеха – доставка трансплантата. В настоящее время выделяют введение микробиоты донора в верхние отделы ЖКТ с помощью оральных капсул; средние отделы ЖКТ (в желудок) – через канал гастроскопа, в двенадцатиперстную кишку – через назоинтестинальный зонд или РЕГ-гастростому; в нижние отделы ЖКТ (восходящую или нисходящую ободочную кишку) – с помощью клизмы, канала колоноскопа, колостомы [14]. Каждый метод обладает недостатками и преимуществами, но с точки зрения вероятности «приживления» трансплантата наиболее эффективным (93%) считается многократная доставка в слепую кишку во время процедуры фиброколоноскопии. Технологии доставки постоянно совершенствуются и на-

правлены как на повышение эффективности, так и на повышение комфорта пациента. В данном аспекте перспективным выглядит процедура трансэндоскопической доставки в слепую кишку с фиксацией зонда клипсами и использование оральных капсул [15].

Также совершенствуются методы подготовки матрицы для трансплантируемых микроорганизмов – использование пектина с целью увеличения активности ферментации пищевых волокон с образованием короткоцепочечных жирных кислот, что позволяет микроорганизмам донора быстрее размножаться [16].

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является эффективным методом лечения онкологических, гематологических и наследственных заболеваний, основанным, с одной стороны, на эрадикации опухолевого клона, с другой – с иммуноадаптивным эффектом новой иммунной системы донора в виде реакции «трансплантат против лейкоза/лимфомы» [17]. Ограничивающим фактором к рутинному применению метода ТГСК является высокий риск развития жизнеугрожающих инфекционных и иммунологических осложнений, геморрагического синдрома, полиорганной токсичности цитостатических препаратов, иммуносупрессантов и противомикробных лекарств. Негативное воздействие на микробиоту пациента при ТГСК сильно выражено за счет использования низкомикробной диеты, которая часто ведет к развитию недостаточности питания, деконтаминации кишечника с целью эрадикации облигатных микроорганизмов, применения цитостатических препаратов и/или облучения, повреждающих эпителиоциты ЖКТ. Наряду с антибиотикотерапией вышеуказанные факторы приводят к выраженным нарушениям состава микробиоты, развитию патогенной поли- и панрезистентной микробиоты, увеличению риска возникновения острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [18, 19].

Таким образом, идея использования ТФМ при ТГСК выглядит перспективной во многих аспектах: профилактика и лечение инфекционных осложнений, купирование синдрома мальабсорбции и профилактика развития кахексии, терапия резистентных форм острой РТПХ с поражением кишечника [20].

Пациенты и методы

В 2016 г. в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой выполнено 6 ТФМ у 3 пациентов после аллогенной ТГСК. Основные этапы ТФМ включали:

- определение показаний к ТФМ;
- обследование пациента;
- обследование донора микробиоты;
- оценка состава микробиоты донора;
- заготовка трансплантата;
- подготовка пациента;
- процедура ТФМ;
- наблюдение и оценка полученных результатов.

После установления показаний к ТФМ от пациента (или родителей пациента) и донора получали информированное согласие на проведение процедуры. Далее пациента обследовали согласно представленной схеме:

- комплекс клинических и лабораторных методик обследования реципиентов кишечной микробиоты по стандартной схеме для клиник общего профиля;
- мультиплексная ПЦР основных групп кишечных микроорганизмов («Колонофлор-16»);
- исследование методом иммуноферментного анализа (ИФА) биологических маркеров поражения кишечника (фекальный кальпротектин);
- определение клостридиальных токсинов А и В в биологических пробах;
- копрограмма;
- исследование биоптатов слизистой оболочки желудка и/или кишечника с последующим гистологическим и иммуногистохимическим фенотипированием лимфоцитов и иммуногистохимической верификацией инфекционного поражения слизистой кишечника. Гистологические препараты, приготовленные по стандартной методике из залитого в парафин материала, окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону и альциановым синим;
- стандартные методы бактериологического исследования локальных образцов биоматериала (микроскопия, культивирование, оценка антибиотикорезистентности);
- ПЦР на энтеропатогенные вирусы.

Обследование донора кишечной микробиоты включало:

- комплекс клинических и лабораторных методик обследования доноров кишечной микробиоты по стандартной схеме для доноров крови согласно приказу Минздрава РФ от 14 сентября 2001 г. №364 «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов»;
- мультиплексное ПЦР-исследование основных групп кишечных микроорганизмов («Колонофлор-16»);
- стандартные методы бактериологического исследования локальных образцов стула (микроскопия, культивирование, оценка антибиотикорезистентности);
- ПЦР на энтеропатогенные вирусы;
- обследование стула на гельминтозы и простейшие.

Протокол приготовления трансплантата [21]:

- сбор фекалий 60–120 г, взвешивание;
 - добавление 100 мл физиологического раствора (0,9% NaCl) к фекалиям и суспендирование до получения равномерной суспензии;
 - фильтрование полученного материала.
- Подготовка пациента:
- за 72 ч до ТФМ инулин 1 г × 4 р/сут перорально у взрослых и 0,5 г × 4 раз/сут перорально у детей;
 - за 24 ч до ТФМ отмена антибиотиков;
 - за 1 ч до ТФМ антиэметики (ондансетрон), прокинетики (метоклопрамид), гастропротекторы (омепразол).

В день выполнения ТФМ (Д+0) оценивались: клинические проявления, клинический анализ крови, биохимические показатели крови, затем оценивали ежедневно в течение 20 дней до ТФМ и 40 дней после ТФМ. При отсутствии активной генерализованной и локальной инфекции у пациентов профилактику антибактериальными препаратами не проводили.

Через 10 дней (Д+10) и через 30 дней (Д+30) проводили изучение лабораторных изменений в стуле: «Колонофлор-16», фекальный кальпротектин, копрограмма, через 14 дней (Д+14) и 30 (Д+30) – бактериологические посевы: стул, зев, моча, кровь.

Результаты исследования и их обсуждение

Пациентка 1, 10 лет, девочка, масса тела 15,5 кг. Основной диагноз: «Острый лимфобластный лейкоз, В1 – иммунологический вариант, транслокация t(12;21) TEL/AML.HR. I полная клиничко-гематологическая ремиссия. I поздний костно-мозговой рецидив. II полная клиничко-гематологическая ремиссия. Аллогенная родственная ТГСК (донор – брат). Первичное неприживление. II очень ранний костно-мозговой рецидив. III полная клиничко-гематологическая ремиссия. Гаплоидентичная ТГСК (донор – мать). Молекулярная ремиссия». Осложнение основного диагноза: «Хроническая РТПХ, распространенная форма, с поражением кожи, слизистых, желудочно-кишечного тракта (волнообразное, стероидрезистентное течение). Хроническая рецидивирующая форма эрозивно-язвенного колита, II ст. Псевдомембранозный колит (токсин В), тяжелой степени. Синдром мальабсорбции. Кахексия».

Клиническая и лабораторная картина

Поступила в ОРИТ с сепсисом, выраженным синдромом мальдигестии и мальабсорбции в виде анорексии, тошноты, водянистого стула с прожилками крови кратностью 6–17 р/сут, общим объемом 250–970 мл/сут, с умеренным абдоминальным болевым синдромом, лихорадкой 1–2 р/сут до 38,9°C. Проводилась эмпирическая антибактериальная терапия. Из-за невозможности энтерального питания пациентка получала полное парентеральное питание. Терапия пробиотиками (ринофлор) – без эффекта.

По данным биопсии слизистой участка толстой кишки до ТФМ – картина инфекционного колита, хронической РТПХ.

Анализ стула до ТФМ: фекальный кальпротектин – 290 мкг/г, клостридиальный токсин А-отрицательный, В-положительный (табл. 1).

Состав микробиоты пациентки до ТФМ включал сниженное количество бифидобактерий, отсутствие облигатной типичной кишечной палочки (табл. 2, 3).

Состав микробиоты донора

Анаэробный дисбаланс – количество бактероидов значительно превышает количество *Faecalibacterium prausnitzii*. Обнаружена *Klebsiella oxytoca* – 10^8 КОЕ/г, *Escherichia coli enteropathogenic* – 10^9 КОЕ/г, *Staphylococcus aureus* – 10^7 КОЕ/г, *Enterobacter spp.* – 10^8 КОЕ/г.

Техника введения фекального трансплантата

Под внутривенной седацией пропофолом 2 мг/кг в условиях палаты ОРИТ выполняли фиброгастродуоденоскопию с введением через канал эндоскопа в нисходящую часть двенадцатиперстной кишки фекального трансплантата – 40 мл. На втором этапе с интервалом 1 сут выполняли фиброколоноскопию с введением 100 мл трансплантата в купол слепой кишки. Осложнений не отмечено.

Наблюдение и оценка результатов

Д+2 – восстановление аппетита, купирование тошноты и рвоты.

Д+3 – первые изменения в клинической картине. Появление штаммов *Escherichia coli* из зева, чувствительных ко всем исследуемым антибиотикам.

Д+7 – частичное купирование энтеропатии: снижение кратности стула до 6 (5–8) р/сут, объем стула 290 (205–350) мл/сут.

Таблица 1. Клинические и лабораторные показатели эффективности трансплантации фекальной микробиоты

Пациент	Количество ТФМ, абс.	Продолжительность диареи до ТФМ, мес	<i>Cl. difficile</i> токсин В до ТФМ	<i>Cl. difficile</i> токсин В после ТФМ	Кальпротектин до ТФМ, мкг/г	Кальпротектин после ТФМ, мкг/г	Время ответа, недели
1	2	6	Положительный	Отрицательный	290	10	2
2	1	1	Положительный	Положительный	44	83	2
3	3	3	Положительный	Отрицательный	183	61	4

Таблица 2. Динамика изменений количественного состава микробиоты кишечника после трансплантации фекальной микробиоты, КОЕ/г

Пациент	Общая бак. масса	<i>Lactobac. spp.</i>	<i>Bifidobac. spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterococ. spp.</i>	<i>Bacteroides frag. group</i>	<i>Faecalibac. prausnitzii</i>
1	До ТФМ	10^{11}	1×10^8	1×10^7	0	$<10^5$	0
	Донор	3×10^{12}	2×10^7	6×10^8	3×10^9	1×10^5	4×10^8
	Д+10	3×10^{12}	6×10^9	6×10^9	7×10^{10}	8×10^6	0
2	До ТФМ	10^9	$<10^5$	2×10^6	2×10^5	7×10^8	3×10^5
	Донор	3×10^{12}	2×10^7	2×10^8	3×10^7	$<10^5$	5×10^{10}
	Д+10	7×10^{12}	10^{10}	3×10^7	10^9	8×10^{10}	9×10^7
3	До ТФМ	10^{11}	7×10^5	10^8	10^6	$<10^5$	3×10^6
	Донор	3×10^{12}	3×10^6	9×10^7	5×10^7	$<10^5$	4×10^{10}
	Д+10	8×10^{11}	2×10^6	4×10^7	8×10^9	$<10^5$	5×10^5

Таблица 3. Динамика изменений количественного состава микробиоты кишечника после трансплантации фекальной микробиоты (продолжение), КОЕ/г

Пациент	<i>Kl. oxytoca</i>	<i>Kl. pneumoniae</i>	<i>E. coli enteropat.</i>	<i>Cl. difficile</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobac. spp.</i>	<i>Fusobac. spp.</i>
1	До ТФМ	0	0	10^5	0	0	0
	Донор	3×10^8	0	10^9	0	3×10^8	0
	Д+10	8×10^8	0	3×10^{10}	0	3×10^9	0
2	До ТФМ	0	0	0	0	10^6	0
	Донор	0	0	10^7	0	4×10^8	0
	Д+10	0	0	10^9	0	2×10^9	2×10^9
3	До ТФМ	0	7×10^9	0	0	10^{11}	0
	Донор	0	0	2×10^6	0	10^7	0
	Д+10	0	2×10^9	5×10^9	0	8×10^9	0

Таблица 4. Динамика изменений качественного состава микробиоты зева, мочи и крови после трансплантации фекальной микробиоты

Пациент	Обследование	Моча	День после ТФМ	Зев	День после ТФМ	Кровь	День после ТФМ	УПФ	День после ТФМ
1	До ТФМ После ТФМ	<i>St. viridans</i> <i>E. coli</i>	3	<i>St. epidermidis</i> <i>St. epidermidis</i>	без изм.	отр. отр.		отр. отр.	
2	До ТФМ После ТФМ	<i>Kl. pneumoniae</i> <i>Pr. mirabilis</i>	14	<i>Kl. pneumoniae</i> <i>Pr. mirabilis</i>	34	отр. отр.		отр. отр.	
3	До ТФМ После ТФМ	<i>Kl. pneumoniae</i> <i>Ps. aeruginosa</i> <i>v. non mucosa</i> <i>St. viridans</i>	21	<i>Kl. pneumoniae</i> <i>Ps. aeruginosa</i> <i>v. non mucosa</i> <i>St. viridans</i>	21	<i>Kl. pneumoniae</i> отр.	32	<i>Kl. pneumoniae</i> <i>Kl. pneumoniae</i> сниженный титр	8

Д+8 – полное купирование болевого синдрома.

Д+10 – изменение консистенции стула – кашицеобразный, без крови и слизи; снижение интенсивности лихорадки до 38,0°C 1–2 р/сут. Антибактериальную терапию не возобновляли.

Д+30 – Полный клинический ответ. Прибавка массы тела + 2,5 кг (15,5–18 кг). Клостридиальный токсин А – отрицательный, В – отрицательный. Уровень фекального кальпротектина – 10 мкг/г.

Состав микробиоты пациентки после ТФМ

Анаэробный дисбаланс – количество бактериоидов значительно превышает количество *Faecalibacterium prausnitzii*. Обнаружена *Klebsiella oxytoca* – 10⁸ КОЕ/г, *Escherichia coli enteropathogenic* – 10¹⁰ КОЕ/г, *Enterobacter spp.* – 10⁹ КОЕ/г.

Пациент 2, 28 лет, мужчина, масса тела 49 кг. Основной диагноз: «Острый миелобластный лейкоз, М2-вариант (FAB). I клинико-гематологическая ремиссия. Первый ранний рецидив. II клинико-гематологическая ремиссия. Гаплоидентичная ТГСК от 12.05.15. Острая РТПХ 2-й ст. (кожи 3-й ст.) Д+115. Разрешение. Второй ранний рецидив. Клинико-гематологическая ремиссия. Хроническая РТПХ, overlap-syndrom, 4-й степени (печень 4-й ст., кишечник 3-й ст.).

Осложнение основного диагноза: «Псевдомембранозный колит *Cl. difficile*. Острое кишечное кровотечение. Острое легочное кровотечение». Сопутствующий диагноз: «Синдром Жильбера».

Клиническая и лабораторная картина

Поступил в ОРИТ с клинической картиной выраженного холестатического синдрома и энтеропатией: билирубин – 424 (пределы значений: 235–641) ммоль/л, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – 409 (285–622) ммоль/л, щелочная фосфатаза (ЩФ) – 151 (80–265) ммоль/л, гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП) – 1702 (322–3041) ммоль/л. Энтеропатия характеризовалась водянистым/кашицеобразным стулом 400 (250–550) мл/сут, 4–5 р/сут с прожилками и сгустками крови. Температура тела 36,6°C. Питание энтеральное, недостаточное. По данным биопсии слизистой участка толстой кишки – минимально-выраженная лимфоцитарная инфильтрация, обусловленная РТПХ.

Состав микробиоты пациента до ТФМ: сниженное количество *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides fragilis* и *Faecalibacterium prausnitzii*. Повышение количества *Enterococcus spp.* – 7 × 10⁸ КОЕ/г, *Enterobacter spp.* – 10⁶ КОЕ/г.

Состав микробиоты донора

Обнаружен *Proteus mirabilis/vulgaris* – 4 × 10⁸ КОЕ/г, *Escherichia coli enteropathogenic* – 10⁷ КОЕ/г., *Enterobacter spp.* – 10⁶ КОЕ/г.

Техника выполнения

Без седации выполнена фиброгастроуденоскопия с введением через проводник, введенный в канал эндоскопа, 100 мл трансплантата. На втором этапе выполнена фиброколоноскопия с введением 200 мл трансплантата. Осложнений не было.

Наблюдение и оценка результатов

Д0+2 – отсутствие стула.

Д+3-4 – изменение интенсивности энтеропатии: кратность стула сократилась до 1–2 р/сут, объем стула 222 (0–300) мл/сут, кашицеобразный – оформленный, без примеси крови.

Д+4 – появление аппетита.

Д+30 – зарегистрирован полный клинический ответ. Динамика массы тела пациента – 49–52 кг. Частичный регресс лабораторных проявлений холестатического синдрома: билирубин 377 (250–490) ммоль/л, ЛДГ – 386 (206–576) ммоль/л, ЩФ – 311 (73–532) ммоль/л, ГГТП – 537 (298–771) ммоль/л.

Д+14 – уровень фекального кальпротектина – 83 мкг/г, клостридиальный токсин А – отрицательный, В – положительный.

Состав микробиоты пациента после ТФМ

Анаэробный дисбаланс – количество бактериоидов значительно превышает количество *Faecalibacterium prausnitzii*. Обнаружена *Candida spp.* – 10⁶ КОЕ/г, *Proteus mirabilis/vulgaris* – 2 × 10⁹ КОЕ/г, *Escherichia coli enteropathogenic* – 10⁹ КОЕ/г, *Enterobacter spp.* – 6 × 10⁸ КОЕ/г, *Fusobacterium spp.* – 2 × 10⁹ КОЕ/г.

Изменение микробиоты других локусов

До ТФМ в многократных посевах из зева и мочи определялись высевы полирезистентной к антибактериальным препаратам *Klebsiella pneumoniae* (чувствительность только к *Chloramphenicol*, *Colistin*). На 14-й день после ТФМ из мочи и на 34-й день из зева выявлено замещение полирезистентной *Klebsiella pneumoniae* на *Proteus mirabilis*, чувствительного ко всем исследуемым антибиотикам (табл. 4).

Пациент 3, 3 года, мальчик, масса тела 8 кг. Основной диагноз: «Бета-талассемия, большая форма. Гаплоидентичная ТГСК (от брата). Первичное непрививление трансплантата 23.03.2016 г. Повторная гаплоидентичная ТГСК (от отца)». Осложнение основного диагноза: «ОРВИ (вирус парагриппа I типа), острый ринофарингит, бронхит. Постцитостатическая гипоплазия кроветворения. Токсикодермия. Мукозит полости рта, ЖКТ 2–3 ст. Периаанальный дерматит. Сепсис. Парез ЖКТ. Веноокклюзионная болезнь печени.

Псевдомембранозный колит. Острая реакция «трансплантат против хозяина» 4-й ст. (кожи 2-й ст., ЖКТ 4-й ст). Токсический панкреатит».

Клиническая и лабораторная картина

Поступил в ОРИТ с клинической картиной выраженного диспептического синдрома, выраженного болевого синдрома, с энтеропатией и сепсисом. Диспептический синдром проявлялся отказом от пищи, выраженной тошнотой, рвотой 1–2 р/сут. Болевой синдром – выраженные боли по всему животу (купировались введением спазмолитиков 2–3 р/сут). Энтеропатия характеризовалась водянистым стулом с умеренным количеством слизи, прожилками крови. Объем стула в течение недели составлял 806 (650–1000) мл/сут, кратность 5 (4–8) раз/сут. Гипертермия 1–2 р/сут до 38,0°C. Значение С-реактивного белка (СРБ) – 80 (55–97) Ед/л. Уровень фекального кальпротектина – 183 мкг/г. Клостридиальный токсин А – отрицательный, В – положительный. Нутритивная терапия проводилась с помощью сочетания энтерального питания через назогастральный зонд и парентерального питания. Антибактериальная терапия проводилась эмпирически.

По данным биопсии слизистой участка толстой кишки – морфологическая картина тяжелой РТПХ с поражением слизистой толстой кишки с развитием распространенной субтотальной и тотальной деструкции эпителия желез с формированием язвенного дефекта слизистой.

Состав микробиоты пациента до ТФМ

Аэробно-анаэробный дисбаланс: снижено количество *Bacteroides fragilis*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Lactobacillus spp.* Преобладающая флора – *Enterobacter spp.* в количестве 10^{11} КОЕ/г, *Klebsiella pneumoniae* – 7×10^9 КОЕ/г.

Состав микробиоты донора

Обнаружена *Escherichia coli enteropathogenic* – 2×10^6 КОЕ/г, *Enterobacter spp.* – 10^7 КОЕ/г.

Техника выполнения

Без седации выполнена фиброгастродуоденоскопия с введением через канал эндоскопа в нисходящую часть двенадцатиперстной кишки 40 мл трансплантата. На 2-м этапе выполнена фиброколоноскопия с введением 100 мл трансплантата в купол слепой кишки. Было выполнено 3 процедуры ТФМ с интервалом в 2 сут. Осложнений не было.

Наблюдение и оценка результатов

Д+2 – появление аппетита, купирование тошноты, рвоты.

Д+6 – уменьшение кратности стула до 3 (2–6) р/сут, объем стула 400 (120–820) мл/сут. Стул кашицеобразный, без крови. Температура тела в период наблюдения после ТФМ субфебрильная с эпизодами фебрильной (максимально до 39,0°C) 2–3 р/нед. Максимальное значение СРБ после ТФМ – 29 ед/л. Антибактериальная терапия проводилась эмпирически и в зависимости от чувствительности к антибиотикам.

Д+28 – зарегистрирован полный клинический ответ. Динамика массы тела – 8–12 кг. Уровень фекального кальпротектина – 61 мкг/г. Клостридиальный токсин А – отрицательный, В – отрицательный.

Состав микробиоты пациента после ТФМ

Снижено количество *Bifidobacterium*. Обнаружена *Klebsiella pneumoniae* – 10^9 КОЕ/г, *Escherichia coli enteropathogenic* – 10^9 КОЕ/г, *Enterobacter spp.* – 10^9 КОЕ/г.

Изменение микробиоты других локусов

До ТФМ из зева, мочи, крови и стула выявлялись многократные высевы полирезистентной к антибактериальным препаратам *Klebsiella pneumoniae* (чувствительность только к *Colistin*). На 21-й день в посевах из мочи и зева определяется замещение *Klebsiella pneumoniae* на *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus viridans* с чувствительностью ко всем исследуемым антибиотикам. На 32-й день – отсутствие посева микроорганизмов из крови, снижение титра полирезистентной *Klebsiella pneumoniae* в стуле.

Главными тенденциями в развитии метода ТФМ являются попытки использования данного вида трансплантации для лечения различных заболеваний, при которых определяется изменение качественного и количественного состава микробиоты кишечника: в случае псевдомембранозного колита, неспецифического язвенного колита, болезни Крона, при рассеянном склерозе, аутизме, метаболическом синдроме, в терапии осложнений после аллогенной ТГСК. Основным терапевтическим эффектом ТФМ в зависимости от диагноза пациента является преодоление антибактериальной пан- и полирезистентности бактерий, купирование синдрома мальабсорбции, купирование неврологического дефицита и поведенческих расстройств.

Вторым важным достижением является развитие и внедрение в клиническую практику новых методов диагностики состава микробиоты человека, среди которых – полимеразноцепная реакция в реальном времени и в большей степени шотган-секвенирование, которое позволяет выбирать оптимального донора микробиоты и оценивать результаты лечения. Благодаря секвенированию ТФМ может осуществляться с позиций доказательной медицины и позволяет идентифицировать новые виды бактерий и отслеживать их вклад в метаболические процессы. Для более точного определения всех видов микробиоты и ее дальнейшего распространения по другим локусам необходимо выполнять секвенирование полного генома микробиоты человека до и после ТФМ.

Несмотря на обнадеживающие результаты лечения, в настоящее время ТФМ редко применяется при наличии иммунодефицитных состояний, например после ТГСК. Это связано с намного более тяжелым общесоматическим состоянием реципиентов ТГСК, выраженными структурными изменениями слизистой ЖКТ, сопутствующими инфекционными осложнениями. Особенностью реципиентов ТГСК от аллогенных доноров является длительный иммунодефицит, сниженная эффективность антибактериальной терапии с развитием антибиотикорезистентности, белково-энергетическая недостаточность и кахексия на фоне функциональной недостаточности ЖКТ и эндокринных желез при иммунных осложнениях, в частности реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

РТПХ играет одну из ключевых ролей в посттрансплантационной летальности и качестве жизни пациентов. В основе патогенеза РТПХ – поражение клеток реципиента, которые распознаются как антигены, иммунокомпетентными клетками донорского трансплантата [22]. Наиболее подвержены повреждению обладающие высокой пролиферативной активностью клетки кожи, энтероциты и эндотелий мелких желчных протоков печени. При кишечной форме РТПХ основными клетками-мишенями являются кишечная стволо-

вая клетка и ее ниша – клетки Пенета, повреждения которых наряду с дисбиозом кишечной микробиоты, приводят к дисфункции энтероцитов, бактериальной колонизации и, как следствие, потенцированию системной воспалительной реакции [23, 24]. Кишечная форма РТПХ проявляется наличием секреторной формы диареи. Морфологическим субстратом РТПХ с поражением слизистой оболочки желудка и/или кишечника является внутриэпителиальная лимфоцитарная (CD8+) инфильтрация с повреждением эпителиальных клеток желез. При тяжелой степени поражения выявляются деструктивные изменения эпителиальной выстилки желез, вплоть до формирования язвенных дефектов [25]. Возможность восстановить микробиоту кишечника и снизить локальное воспаление представляется важным терапевтическим эффектом ТФМ у пациентов с РТПХ.

Дополнительным отягощающим фактором при ТГСК может служить деконтаминация кишечника для профилактики инфекционных осложнений, которая, тем не менее, в ряде случаев способствует развитию полирезистентных к антибактериальной терапии штаммов микроорганизмов. Более 90% больных получают профилактическую, эмпирическую или таргетную антибактериальную терапию, которая полностью меняет состав кишечной микробиоты.

Применение ТФМ у пациентов после ТГСК и у пациентов с вторичными иммунодефицитами, возможно, сопряжено с опасностью генерализации трансплантированной микробиоты. Однако стоит отметить, что она является маловирулентной и чувствительной к стандартной антибактериальной терапии. Например, в клиническом случае №2 именно наличие *Proteus mirabilis* донорского происхождения в количестве 4×10^8 КОЕ/мл (норма не более 10^4 КОЕ/мл), возможно, позволило вытеснить полирезистентную *Klebsiella pneumoniae* из других локусов организма. В клиническом случае №1 – у пациентки в составе кишечной микробиоты полностью отсутствовала облигатная типичная *Escherichia coli*. После ТФМ *Escherichia coli* была идентифицирована не только в стуле (7×10^{10} КОЕ/мл), но и в моче (5×10^3 КОЕ/мл). В клиническом случае №3 произошла замена полирезистентной *Klebsiella pneumoniae* на виды микроорганизмов, чувствительных к антибиотикам: *Pseudomonas aeruginosa* (моча – умеренный рост, зев – обильный рост), *Streptococcus viridans* (моча – умеренный рост, зев – умеренный рост).

Эти изменения важны в контексте того, что полирезистентная к антибиотикам микробиота, которая колонизирует кишечник и другие локусы пациента, часто является причиной сепсиса и летального исхода, тогда как прочие виды микроорганизмов, которые входят в состав нормальной микробиоты человека, достаточно редко становились причиной инфекционных осложнений. Кроме того, при наличии чувствительности к антибактериальным препаратам такой состав микробиоты с намного большей вероятностью поддается эрадикации.

Неопределенным аспектом при выполнении ТФМ является выбор донора – родственник, неродственник, или аутологичная ТФМ, который включает медицинскую, этическую и экономическую составляющую. С экономической и этической точек зрения оптимально применять аутологичную ТФМ, однако часто качественный состав микробиоты резко изменен на фоне курсов предшествующей цитостатической и

антибактериальной терапии. Аллогенными донорами часто являются здоровые родственники: мать, отец, сиблинг. Однако не всегда «здоровый» донор является оптимальным для пациента. Развитие банков фекальных трансплантатов позволит решить проблему поиска донора.

После выбора оптимального донора фекальной микробиоты, следующим важным этапом является доставка трансплантата, от которой зависит вероятность его приживления. Существуют методы введения микробиоты донора в верхние, средние и нижние отделы ЖКТ. Проводится совершенствование технологии доставки трансплантата с целью повышения вероятности приживления трансплантата, снижения риска осложнений и повышения комплаентности со стороны пациента. Обсуждается вопрос целесообразности анестезиологического пособия при ТФМ. На наш взгляд, применение медицинской седации при проведении ТФМ требуется не только у детей, но и взрослых с этической точки зрения.

Заключение

В случае возникновения инфекционных осложнений после аллогенной ТГСК, не восприимчивых к стандартным методам терапии, отмечается значительное снижение эффективности трансплантации за счет увеличения летальности в результате развития сепсиса, как правило, ассоциированного с условно-патогенными микроорганизмами: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. Одной из причин антибиотикорезистентности является длительная антибактериальная терапия, которая, в свою очередь, может быть одним из пусковых механизмов возникновения РТПХ.

Развитие кишечной формы РТПХ в большинстве случаев приводит к невозможности адекватного питания на фоне синдрома мальдигестии и мальабсорбции, что, в конечном итоге, формирует белково-энергетическую недостаточность, кахексию и снижение качества жизни. И при сепсисе, и при РТПХ отмечаются выраженные изменения в составе микробиоты кишечника и других локусах организма.

Первые эффективные и безопасные клинические случаи ТФМ у тяжелой категории больных позволяют рассматривать этот метод как дополнительную или, в ряде случаев, альтернативную технологию терапии инфекционных и иммунных осложнений после аллогенной ТГСК. При ТФМ происходит изменение состава кишечной микробиоты, что приводит к эрадикации инфекции *Cl. difficile*, *Klebsiella pneumoniae*, купированию антибиотик-ассоциированной диареи, замене резистентной к антибиотикам микробиоты в других локусах организма.

Дальнейшее внедрение ТФМ в клиническую практику требует детального изучения – определения критериев для начала терапии и выбора оптимального донора за счет использования секвенирования микробиоты, оценке долгосрочной эффективности и безопасности.

Литература

1. Wang W. Gut microbiota and allogeneic transplantation. J Transl Med. 2015; 13(275):275. DOI: 10.1186/s12967-015-0640-8.

2. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability and temporal stability of the intestinal microbiota in the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 15;108 Suppl 1:4586-91. DOI: 10.1073/pnas.1000097107
3. Moore-Connors JM, Dunn KA, Bielawski JP, Van Limbergen J. Novel strategies for applied metagenomics. *Inflamm Bowel Dis*. 2016 Mar;22(3):709-18. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000717
4. Leszczyszyn JJ, Radomski M, Leszczyszyn AM. Intestinal microbiota transplant – current state of knowledge. *Reumatologia*. 2016;54(1):24-8. DOI: 10.5114/reum.2016.58758
5. Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, Zisman TL. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol*. 2012 Oct;107(10):1452-9. DOI: 10.1038/ajg.2012.93
6. Sokol H. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Oct 28;105(43):16731-6. DOI: 10.1073/pnas.0804812105
7. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Vaccines/ucm361379.htm> (accessed 10.01.2017)
8. Rahier JF, Maga F, Abreu C, Armuzzi A, Ben-Horin S, Chowers Y, et al. Second European evidence-based consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis*. 2014 Jun;8(6):443-68. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.12.013
9. Debast SB, Bauer MP, Kuijper JL. European society of clinical microbiology and infectious diseases: update of the treatment guidance document for Clostridium difficile infection. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Mar;20 Suppl 2:1-26. DOI: 10.1111/1469-0691.12418
10. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile infection. A systematic review. *J Clin Gastroenterol*. 2014 Sep;48(8):693-702.
11. Rossen NG, McDonald JK, deVries EM, D'Haens GR, de Vos WM, Zoetendal EG, et al. Faecal microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology: A systematic review. *World J Gastroenterol*. 2015 May 7;21(17):5359-71. DOI: 10.3748/wjg.v21.i17.5359
12. Evrensel A, Ceylan ME. Fecal microbiota transplantation and its usage in neuropsychiatric disorders. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2016 Aug 31;14(3):231-7. DOI: 10.9758/cpn.2016.14.3.231
13. Wei Y, Yang J, Wang J, Yang Y, Huang J, Gong H, et al. Successful treatment with fecal microbiota transplantation in patients with multiple organ dysfunction syndrome and diarrhea following severe sepsis. *Critical Care*. 2016;20(1):332. DOI: 10.1186/s13054-016-1491-2
14. Youngster I, Mahabamunuge J, Systrom HK, Sauk J, Khalili H, Levin J, et al. Oral, frozen fecal microbiota transplant (FMT) capsules for recurrent Clostridium difficile infection. *BMC Med*. 2016 Sep 9;14(1):134. DOI: 10.1186/s12916-016-0680-9.
15. Zhaoyuan P, et al. TET for fecal microbiota transplantation. *Endoscopy International Open*. 2016;4, E610–E613.
16. Wei Y, Gong J, Zhu W, Tian H, Ding C, Gu L, et al. Pectin enhances the effect of fecal microbiota transplantation in ulcerative colitis by delaying the loss of diversity of gut flora. *BMC Microbiology*. 2016;16:1-9. DOI: 10.1186/s12866-016-0869-2
17. Афанасьев БВ, Зубаровская ЛС, Моисеев ИС. Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: настоящее, проблемы, перспективы. *Российский журнал детской гематологии и онкологии*. 2015;2(2):28-42. DOI: 10.17650/2311-1267-2015-2-2-28-42
18. Shono Y, Docampo MD, Peled JU, Perobelli SM, Jenq RR. Intestinal microbiota related effects on graft versus host disease. *Int J Hematol*. 2015 May;101(5):428-37. DOI: 10.1007/s12185-015-1781-5
19. Jenq RR, Ubeda C, Taur Y, Menezes CC, Khanin R, Dudakov JA, et al. Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med*. 2012 May 7;209(5):903-11. DOI: 10.1084/jem.20112408
20. Kakhana K, Fujioka Y, Suda W, Najima Y, Kuwata G, Sasajima S, et al. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut. *Blood*. 2016 Oct 20;128(16):2083-2088. DOI: 10.1182/blood-2016-05-717652
21. van Nood E, Speelman P, Kuijper EJ, Keller JJ. Struggling with recurrent Clostridium difficile infections: is donor faeces the solution? *Eurosurveillance*. 2009;14(34):1-6
22. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host-disease. *Lancet*. 2009 May 2;373(9674):1550-61. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3
23. Teshima T., Reddy P., Zeiser R. Acute graft-versus-host disease: novel biological insights. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jan;22(1):11-6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.10.001
24. Nalle SC, Turner JR. Intestinal barrier loss as a critical link between inflammatory bowel disease and graft-versus-host disease. *Mucosal Immunol*. 2015 Jul;8(4):720-30. DOI: 10.1038/mi.2015.40
25. Кучер МА, Пирогова ОВ, Голощанов ОВ, Карев ВЕ, Швецов АН, Афанасьев БВ. Особенности комплексной нутритивной поддержки пациентов с цитостатической терапией и трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. *Вопросы диетологии*. 2016;6(1):5-12. DOI: 10.20953/2224-5448-2016-1-5-12

References

1. Wang W. Gut microbiota and allogeneic transplantation. *J Transl Med*. 2015;13(275):275. DOI: 10.1186/s12967-015-0640-8.
2. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, et al. Composition, variability and temporal stability of the intestinal microbiota in the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Mar 15;108 Suppl 1:4586-91. DOI: 10.1073/pnas.1000097107
3. Moore-Connors JM, Dunn KA, Bielawski JP, Van Limbergen J. Novel strategies for applied metagenomics. *Inflamm Bowel Dis*. 2016 Mar;22(3):709-18. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000717
4. Leszczyszyn JJ, Radomski M, Leszczyszyn AM. Intestinal microbiota transplant – current state of knowledge. *Reumatologia*. 2016;54(1):24-8. DOI: 10.5114/reum.2016.58758
5. Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, Zisman TL. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol*. 2012 Oct;107(10):1452-9. DOI: 10.1038/ajg.2012.93
6. Sokol H. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Oct 28;105(43):16731-6. DOI: 10.1073/pnas.0804812105
7. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Vaccines/ucm361379.htm> (accessed 10.01.2017)
8. Rahier JF, Maga F, Abreu C, Armuzzi A, Ben-Horin S, Chowers Y, et al. Second European evidence-based consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis*. 2014 Jun;8(6):443-68. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.12.013
9. Debast SB, Bauer MP, Kuijper JL. European society of clinical microbiology and infectious diseases: update of the treatment guidance document for Clostridium difficile infection. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Mar;20 Suppl 2:1-26. DOI: 10.1111/1469-0691.12418
10. Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile infection. A systematic review. *J Clin Gastroenterol*. 2014 Sep;48(8):693-702.
11. Rossen NG, McDonald JK, deVries EM, D'Haens GR, de Vos WM, Zoetendal EG, et al. Faecal microbiota transplantation as novel therapy in gastroenterology:

- A systematic review. *World J Gastroenterol*. 2015 May 7;21(17):5359-71. DOI: 10.3748/wjg.v21.i17.5359
12. Evrensel A, Ceylan ME. Fecal microbiota transplantation and its usage in neuropsychiatric disorders. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2016 Aug 31;14(3):231-7. DOI: 10.9758/cpn.2016.14.3.231
 13. Wei Y, Yang J, Wang J, Yang Y, Huang J, Gong H, et al. Successful treatment with fecal microbiota transplantation in patients with multiple organ dysfunction syndrome and diarrhea following severe sepsis. *Critical Care*. 2016;20(1):332. DOI: 10.1186/s13054-016-1491-2
 14. Youngster I, Mahabamunuge J, Systrom HK, Sauk J, Khalili H, Levin J, et al. Oral, frozen fecal microbiota transplant (FMT) capsules for recurrent *Clostridium difficile* infection. *BMC Med*. 2016 Sep 9;14(1):134. DOI: 10.1186/s12916-016-0680-9.
 15. Zhaoyuan P, et al. TET for fecal microbiota transplantation. *Endoscopy International Open*. 2016;4, E610–E613.
 16. Wei Y, Gong J, Zhu W, Tian H, Ding C, Gu L, et al. Pectin enhances the effect of fecal microbiota transplantation in ulcerative colitis by delaying the loss of diversity of gut flora. *BMC Microbiology*. 2016;16:1-9. DOI: 10.1186/s12866-016-0869-2
 17. Afanasiev BV, Zubarovskaya LS, Moiseev IS. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children: now, problems and prospects. *Russian Journal of Children Hematology and Oncology*. 2015;2(2):28-42. DOI: 10.17650/2311-1267-2015-2-2-28-42
 18. Shono Y, Docampo MD, Peled JU, Perobelli SM, Jenq RR. Intestinal microbiota related effects on graft versus host disease. *Int J Hematol*. 2015 May;101(5):428-37. DOI: 10.1007/s12185-015-1781-5
 19. Jenq RR, Ubeda C, Taur Y, Menezes CC, Khanin R, Dudakov JA, et al. Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med*. 2012 May 7;209(5):903-11. DOI: 10.1084/jem.20112408
 20. Kakhana K, Fujioka Y, Suda W, Najima Y, Kuwata G, Sasajima S, et al. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut. *Blood*. 2016 Oct 20;128(16):2083-2088. DOI: 10.1182/blood-2016-05-717652
 21. van Nood E, Speelman P, Kuijper EJ, Keller JJ. Struggling with recurrent *Clostridium difficile* infections: is donor faeces the solution? *Eurosurveillance*. 2009; 14(34):1-6
 22. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host-disease. *Lancet*. 2009 May 2;373(9674):1550-61. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3
 23. Teshima T., Reddy P., Zeiser R. Acute graft-versus-host disease: novel biological insights. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Jan;22(1):11-6. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.10.001
 24. Nalle SC, Turner JR. Intestinal barrier loss as a critical link between inflammatory bowel disease and graft-versus-host disease. *Mucosal Immunol*. 2015 Jul; 8(4):720-30. DOI: 10.1038/mi.2015.40
 25. Kucher MA, Pirogova OV, Goloshchapov OV, Karev VE, Shvetsov AN, Afanas'ev BV. Specificities of complex nutritive support of patients with cytostatic therapy and haemopoietic stem cell transplantation. *Vopr. dietol. (Nutrition)*. 2016;6(1): 5-12. DOI: 10.20953/2224-5448-2016-1-5-12

Информация о соавторах:

Голощапов Олег Валерьевич, ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12
Телефон: (812) 338-6260
E-mail: golocht@yandex.ru

Суворова Мария Александровна, руководитель научно-исследовательской лаборатории Explana
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский проспект, 42-Б, а/я 101
Телефон: (812) 385-0055
E-mail: m.suvorova@explana.ru

Клементьева Руслана Викторовна, врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12
Телефон: (812) 338-6260
E-mail: klementeva85@mail.ru

Щербakov Александр Александрович, врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12
Телефон: (812) 338-6260
E-mail: xihmr@gmail.com

Шведов Александр Николаевич, заведующий отделением хирургии НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12,
Телефон: (812) 338-6260
E-mail: shucker@list.ru

Моисеев Иван Сергеевич, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией трансплантологии, отдела биотехнологий НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12,
Телефон: (812) 338-6260
E-mail: moisiv@mail.ru

Чухловин Алексей Борисович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12,
Телефон: (812) 338-6260
E-mail: alexei.chukh@mail.ru

Афанасьев Борис Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М.Горбачевой
Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12
Телефон: (812) 233-4751
E-mail: bmt-director@spb-gmu.ru

Information about co-authors:

Oleg V. Goloshchapov, assistant at the chair of anaesthesiology and resuscitation, head of the department of resuscitation and intensive care, R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantation
Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 338-6260
E-mail: golocht@yandex.ru

Maria A. Suvorova, head of the Research Laboratory Explana
Address: 42-B, Kamennostrovskii prospect, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 385-0055
E-mail: m.suvorova@explana.ru

Ruslana V. Klement'eva, MD, anaesthesiologist-resuscitation specialist at the department of resuscitation and intensive care, R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantation
Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 338-6260
E-mail: klementeva85@mail.ru

Aleksandr A. Scherbakov, MD, anaesthesiologist-resuscitation specialist at the department of resuscitation and intensive care, R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantation
Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 338-6260
E-mail: xihmr@gmail.com

Aleksandr N. Shvetsov, head of the department of surgery, R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantation
Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 338-6260
E-mail: shucker@list.ru

Ivan S. Moiseev, MD, PhD, head of the laboratory of transplantation, department of biotechnology, R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantation
Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 338-6260
E-mail: moisiv@mail.ru

Aleksey B. Chukhlov, MD, PhD, DSc, professor, deputy director for research at R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantation
Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 338-6260
E-mail: alexei.chukh@mail.ru

Boris V. Afanas'ev, MD, PhD, DSc, professor, director of R.M.Gorbacheva Research Institute of Paediatric Oncology, Haematology and Transplantation
Address: 12, ul. Rentgena, St.Petersburg, 197022, Russian Federation
Phone: (812) 233-4751
E-mail: bmt-director@spb-gmu.ru