

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-179-7-69-77

Микробиоценоз кишечника у больных с рецидивирующей инфекцией *Clostridium difficile*, язвенным колитом и синдромом раздраженной кишки после трансплантации фекальной микрофлоры

Шрайнер Е. В.¹, Хавкин А. И.², Власов В. В.³

¹ Новосибирский государственный университет (630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 1, Российская Федерация)

² Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова (Москва, Российская Федерация)

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, Новосибирск, проспект Лаврентьева, 8, Российская Федерация)

Intestinal microbiocenosis in patients with recurrent *Clostridium difficile* infection, ulcerative colitis and irritable bowel syndrome after transplantation of fecal microflora

E. V. Shrainer¹, A. I. Khavkin², V. V. Vlasov³

¹ Novosibirsk State University (630090, Novosibirsk, st. Pirogova, 1, Russia)

² Research and Clinical Institute of Pediatrics at the N. I. Pirogov Russian National Research Medical University (2 Taldomskaya str., Moscow, 125412, Russia)

³ Scientific adviser of the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (630090, Novosibirsk, Lavrentiev Avenue, 8)

Для цитирования: Шрайнер Е. В., Хавкин А. И., Власов В. В. Микробиоценоз кишечника у больных с рецидивирующей инфекцией *Clostridium difficile*, язвенным колитом и синдромом раздраженной кишки после трансплантации фекальной микрофлоры. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;179(7): 69–77. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-179-7-69-77

For citation: Shrainer E. V., Khavkin A. I., Vlasov V. V. Intestinal microbiocenosis in patients with recurrent *Clostridium difficile* infection, ulcerative colitis and irritable bowel syndrome after transplantation of fecal microflora. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;179(7): 69–77. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-179-7-69-77

Шрайнер Евгения Владимировна, к.м.н., старший преподаватель, институт медицины и психологии В. Зельмана

Хавкин Анатолий Ильич, д.м.н., профессор, руководитель отдела гастроэнтерологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю. Е. Вельтищева

Власов Валентин Викторович, академик РАН, доктор химических наук, профессор, научный руководитель Института; член Президиума СО РАН, бюро Отделения биологических наук РАН, объединенного ученого совета по биологическим наукам СО РАН

Evgenia V. Shrainer, MD, PhD, Senior Lecturer, Institute of Medicine and Psychology V. Zelman; ORCID: 0000-0003-3606-4068

Anatoly I. Khavkin, MD, PhD, DSc, professor, head of the department of gastroenterology, Academician Yu. E. Veltishchev; ORCID: 0000-0001-7308-7280

Valentin V. Vlasov, academician of the Russian Academy of Sciences, doctor of chemical sciences, professor, scientific adviser of the Institute; Member of the Presidium of the SB RAS, Bureau of the Department of Biological Sciences of the Russian Academy of Sciences, Joint Scientific Council for Biological Sciences of the SB RAS

✉ *Corresponding author:*

**Шрайнер
Евгения Владимировна**
Evgenia V. Shrainer
sch704@icloud.com

Резюме

Выявленные значительные изменения микробиома кишечника у больных с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), служат причиной для терапевтических вмешательств с целью его коррекции. Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) является эффективным методом лечения рецидивирующей или рефрактерной инфекции *Clostridium difficile*, в том числе, и у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, получающих иммуносупрессивную и антицитокиновую терапию.

Приведены результаты изучения эффективности ТФМ с помощью отфильтрованной водной суспензии фекалий доноров при коррекции нарушений микробиоценоза кишечника у пациентов с рецидивирующей кластридиальной инфекцией (РКИ), язвенным колитом (ЯК) и синдромом раздраженного кишечника (СРК). Через 2 недели после введения надосадочной жидкости суспензии микроорганизмов фекальной микрофлоры у пациентов оценивали динамику общего содержания микроорганизмов и отдельных представителей кишечной микрофлоры. Установлено, что надосадочная жидкость водной суспензии фекалий доноров, содержащая микробные экзометаболиты и другие биологически активные соединения, оказывает в короткие сроки наиболее выраженное влияние на восстановление нормальной кишечной микрофлоры только у пациентов с кластридиальной инфекцией.

Ключевые слова: Трансплантация фекальной микробиоты, язвенный колит, синдром раздражённого кишечника, инфекция *Clostridium difficile*

Summary

Identified significant changes in the intestinal microbiome in patients with inflammatory bowel disease (IBD), serve as the reason for therapeutic interventions in order to correct it. Faecal microbiota transplantation (TFM) is an effective treatment for recurrent or refractory *Clostridium difficile* infections, including in patients with inflammatory bowel diseases receiving immunosuppressive and anticytokine therapy.

The results of studying the effectiveness of TFM using a filtered aqueous suspension of donors feces in the correction of intestinal microbiocenosis in patients with recurrent Clostridial infection (RCT), ulcerative colitis (UC) and irritable bowel syndrome (IBS) are presented. 2 weeks after the introduction of the supernatant, a suspension of fecal microorganism microorganisms in patients evaluated the dynamics of the total content of microorganisms and individual representatives of the intestinal microflora. It was found that the supernatant of an aqueous suspension of donor feces containing microbial exometabolites and other biologically active compounds in the short term has the most pronounced effect on the restoration of normal intestinal microflora only in patients with clostridial infection.

Keywords: Faecal microbiota transplantation, ulcerative colitis, irritable bowel syndrome, *Clostridium difficile* infection

Введение

Взаимосвязь заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и микробиома общеизвестна, хотя большинство механизмов ещё недостаточно изучены [1, 2]. Так, нарушение баланса в кишечном микробиоме приводит к изменению образования газов и короткоцепочечных жирных кислот (КЦКЖ), сигнальных молекул, иммунным и сенсо-моторным нарушениям, не говоря уже об изменении основных функций ЖКТ – перевариванию, всасыванию и выделению [3–5].

В связи с этим, возникает вопрос разработки оптимальных терапевтических стратегий, направленных на коррекцию микробиома. Ранее ожидаемый клинический эффект от пробиотиков, доминирующий сегодня в повседневной практике, показывает, что нецелевые пробиотические штаммы, не дают должного результата при выраженных изменениях микробиома кишечника [2, 3, 6].

В этой связи, трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) является перспективным терапевтическим подходом при заболеваниях, ассоциированных с изменениями композиции кишечной микробиоты.

В течении последних нескольких лет ТФМ была успешно использована при лечении рецидивирующей инфекции *Clostridium difficile* (РКИ), приведшей к изменению микробиоты кишечника результате антибактериальной терапии, нередко, нерациональной, приведшей к излечению более чем в 90% случаев [7]. По нашему мнению, высокий процент эффективности обусловлен отсутствием внутреннего фактора, потенцирующего изменения в композиции микробиоты.

Распространение воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) также обусловило повышение интереса к изучению микробиома [8], недостаточная эффективность лечения, позволяющая достигать ремиссии, а не полного выздоровления пациента, способствовали внедрению различных вариантов ТФМ в этой группе больных, как одной из возможных терапевтических стратегий [9–14].

Как итог количественных и качественных характеристик микробиоты при ВЗК, происходит транслокация микроорганизмов и продуктов микробного происхождения из просвета кишечника [7–9]. Это приводит к активации иммунных клеток (Th1/Th2/Th17), нарушению баланса Th17/Treg

с последующей активацией продукции провоспалительных цитокинов, развитием хронического воспаления, что усугубляет имеющиеся нарушения барьерной функции [15,16]. Одним из механизмов который влияет на проницаемость, помимо зонулина, является уровень короткоцепочечных жирных кислот. Уровень КЦКЖ определяется метаболическим взаимодействием – кроссфидингом бактерий в толстой кишке [17, 18].

Кроме того, бактерии, продуценты противовоспалительных субстратов, являются компонентами филониметаболического ядра («ядра микробиоты»), представляющего собой «содружество» эволюционно стабильных видов микроорганизмов [19, 20]. При ВЗК структура ядра значительно изменяется, в связи с потерей части «полезных» членов микробиома, реализующих функцию колонизационной резистентности [21].

Согласно современным данным исследований, ВЗК-ассоциированный таксономический дисбиоз характеризуется: снижением численности противовоспалительных бактерий – *Faecalibacterium prausnitzii*, *Eubacterium rectale*, *Roseburia* spp., *Anaerostipes* spp., *Blautia* spp., *Butyricoccus* spp., *Clostridium* spp., *Coprococcus* spp.) [22–24]; -уменьшением отношения *Faecalibacterium prausnitzii* к потенциально провоспалительной *Escherichia coli* [25], к *Bacteroides fragilis* [26]; снижением численности рода *Papillibacter* [27]; снижением количества противовоспалительных видов *Ruminococcus* (*R. albus*, *R. bromii*, *R. callidus*) [28], а также количеством муцин/гликан-деградирующих пропионат-продуцирующих бактерий – *Akkermansia muciniphila* и *Bacteroides thetaiotaomicron*.; редкой встречаемостью метаболически наиболее активного вида бактериоидов – *Bacteroides thetaiotaomicron* у пациентов с ЯК, чем у здоровых лиц.

Говоря о роли лактобацилл и бифидобактерий у пациентов с ВЗК, можно отметить, что полученные данные противоречивы: так в одних исследованиях выявлено уменьшение численности *Lactobacillus* spp. и представителей семейства *Leuconostocaceae*, относящихся к группе *Lactobacillus* [29, 30], то в других, напротив, обнаружен рост их количества [25, 31, 32]. В ряде исследований различия в уровне лактобацилл между пациентами с ВЗК и здоровыми лицами выявлено не было [26, 33, 34].

Использование ТФМ в терапии ВЗК подтвердило положительный эффект этого метода лечения на состояние пациентов. Так было проведено 48 исследований в отношении ЯК, из них 4 РКИ, 24 когортных исследования (20 неконтролируемых, 4 контролируемые), остальные наблюдение случаев пациентов. В результате терапии клинической ремиссии достигли 36% пациентов (201 из 555):

- по результатам 24 когортных исследований, включающих 307 человек, доля пациентов, достигших клинической ремиссии составила 33% (95% ДИ=23–43%),
- доля пациентов достигших клинического ответа составила 52% (95% ДИ=40–64%) в мета-анализе из 20 когортных исследований с участием 234 пациентов [35].

Сравнительные исследования ТФМ с аутоаутоплантацией и донорским калом различаются между собой частотой введения (от 2 до 41 дозы) и способом введения, донорским материалом (монодонор или несколько доноров). Поэтому не получены однозначные результаты [3, 4, 35, 36]

Материалы и методы

Нами было обследовано 30 пациентов с ЯК (средний возраст $42 \pm 2,5$ года. 16 мужчин и 14 женщин), 17 пациентов с СРК (средний возраст $30 \pm 5,4$ года. 5 мужчин и 12 женщин); 9 пациентов с КИ (средний возраст $35 \pm 3,8$ года. 2 мужчин и 7 женщин). То есть, в исследование были включены *пациенты* от 18 до 75 лет, обоих полов с язвенным колитом, синдромом раздраженного кишечника, рецидивирующей клостридиальной инфекцией. Подбор донора осуществлялся согласно требованиям Национального института здоровья США [38]. Критерии включения для донора опубликованы нами ранее [3–5]. Для получения взвеси фекальной микробиоты у здоровых обследованных доноров собирают нативный материал в количестве не менее 100 г и замораживают до непосредственного использования. Для приготовления фильтрата фекальной микробиоты (ФФМ) берут не менее 100 г замороженного материала (фекалии). Далее материал размораживают в вытяжном шкафу при температуре $20-22^\circ\text{C}$ в течение 1–1,5 часа. Размороженный материал помещают в миксер, добавляют стерильный физиологический раствор с температурой $20-22^\circ\text{C}$ в количестве 400–500 мл. Далее материал с физраствором перемешивают и измельчают в течение 3–4 минут до гомогенного состояния в миксере, а затем гомогенат фильтруют через марлевый тампон (10 слоёв медицинской марли, плотностью не менее 28 г/м^2) самотеком. Приготовленный фильтрат нормальной кишечной фекальной микробиоты используют в течение 30–60 минут для введения в кишечник пациента.

При колоноскопии фильтрат вводился по 20 мл через каждые 5–10 см по всей длине восходящей кишки и проксимальную часть поперечно-ободочной кишки, в общем объеме 400–500 мл. После трансплантации пациент в течение не менее 4

При СРК немногочисленные экспериментальные и клинические исследования связывают увеличение численности патобионтных штаммов с различными факторами:

1. генетическими (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Bacteroides fragilis*),
2. диетическими (диета с высоким содержанием жира и/или белка: *Bifidobacterium wadsworthia*, *Desulfovibrio* spp., *Desulfuromonas* spp., *Erysipelotrichaceae*, *Bacteroides fragilis*),
3. фармакотерапевтическими (антибиотикотерапия: *Clostridium difficile*)
4. иными, пока не еще установленными, факторами (*pks+ E. coli*), которые могут привести к развитию дисбиоза провоспалительного типа [37].

Таким образом, учитывая противоречивые данные, полученные в результате использования ТФМ при различных патологиях, нами была выполнена **работа, цель которой** заключалась в изучении состояния микробиома и клинико-лабораторных показателей у пациентов с ЯК, СРК, КИ до и после проведения трансплантации донорской фекальной микробиоты.

часов удерживал донорский кал, находясь на постельном режиме.

Пациенту при проведении фиброколоноскопии вводят фильтрат фекальной микробиоты через операционный канал колоноскопа шприцем. Фильтрат вводят на протяжении восходящего отдела ободочной кишки, начиная от купола слепой кишки до печеночного угла небольшими порциями по 50–100 мл препарата пристеночно [38]

После введения фильтрата пациент находится в лежачем положении в течение 3–4-х часов. Для нормализации перистальтики кишечника и уменьшения позывов к дефекации может быть введен церукал в дозировке 10 мг внутримышечно однократно.

Наиболее существенным фактором, определяющим роль ТФМ в лечение, ЯК, является влияние донора. Это было наиболее очевидно в исследовании Моауеди et al, где успех в лечении был обусловлено одним донором, имевшим повышенное количество *Lachnospiraceae* и *Ruminococcus* [39]. Поэтому для пациентов с ЯК мы использовали микст от четверых здоровых доноров. Доставка микробиоты происходила при помощи клизм. Объем используемого фильтрата составлял 150 мл.

Для пациентов с клостридиальной инфекцией и СРК использовался материал монодонора. При проведении фиброколоноскопии вводили пробиотический продукт (фильтрат нормальной фекальной микробиоты) через операционный канал колоноскопа шприцем. Фильтрат вводился на протяжении восходящего отдела ободочной кишки, начиная от купола слепой кишки до печеночного угла небольшими порциями по 50–100 мл препарата пристеночно. Объем используемого фильтрата составлял 450–500 мл.

У всех пациентов до ТФМ и через 2 недели лечения было проведено обследования микробиома

Рисунок 1.
Таксономическая структура на уровне типа бактерий

Figure 1.
Taxonomic structure at the type of bacteria

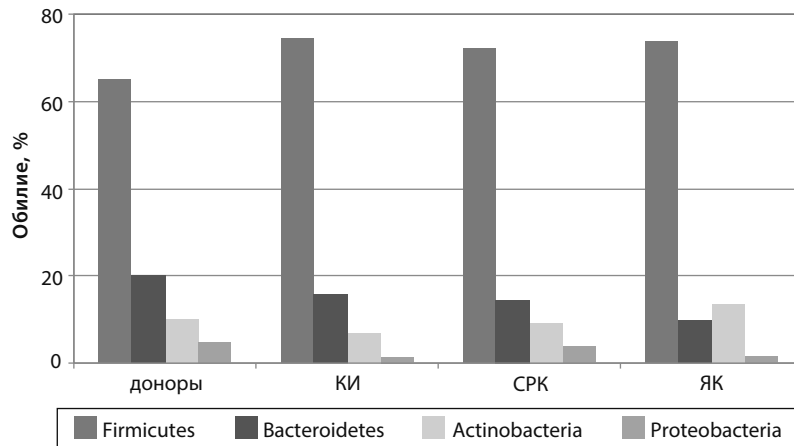


Рисунок 2.
Таксономическая структура на уровне рода бактерий

Figure 2.
Taxonomic structure at the level of the genus of bacteria

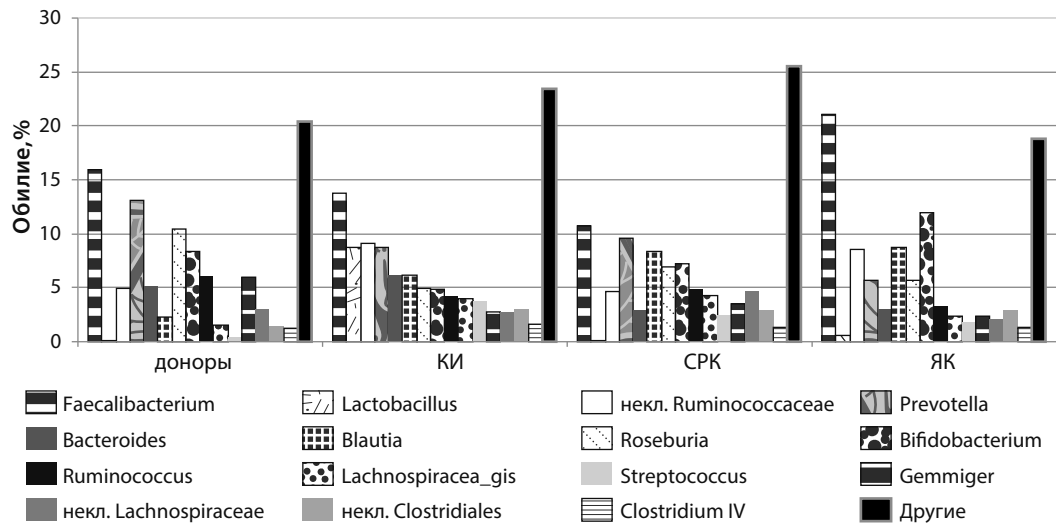


Рисунок 3.
Изменение состава микробиоты у пациентки с ЯК и КИ

Figure 3.
Change in the composition of microbiota in a patient with UC and CI

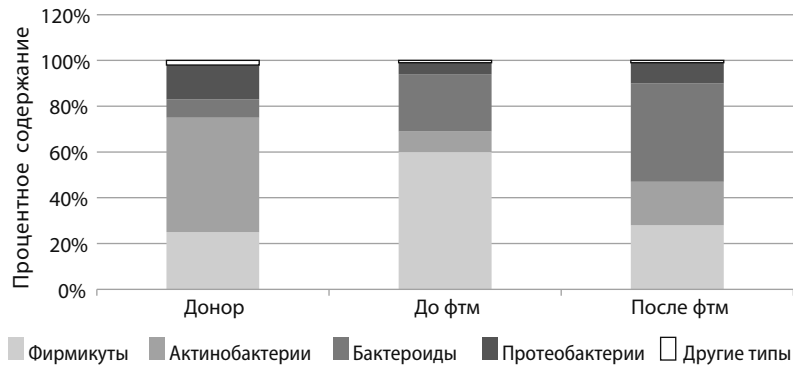


Таблица 1.
Сравнение значений СРБ у пациентов до и после ТФМ*

Примечание:
* Число степеней свободы равно 2, $\chi^2 = 4.367$. Критическое значение χ^2 при уровне значимости $p < 0.05$ составляет 5.991, поэтому связь между факторным и результирующим признаками статистически не значима, уровень значимости $p > 0.05$ ($p = 0.113$).

Table 1.
Comparison of CRP values in patients before and after TFM.

Значение СРБ	группы	До ТФМ	После ТФМ	Ц	Б	НПВС/СА
норма	1	13	21	0	0	13
15–30 ♀ 10–30 ♂	2	7	4	2	0	5
> 30	3	10	5	3	2	5
сумма		30	30	5	2	23

Результаты и их обсуждение

В исследование были взяты 30 пациентов с ЯК, средний возраст 42±2,5 года. 16 мужчин и 14 женщин. Анализ микробиоты был проведен у 22 человек только до начала терапии; 17 пациентов с СРК, средний возраст 30±5,4 года. 5 мужчин и 12 женщин; 9 пациентов с КИ, средний возраст 35±3,8 года. 2 мужчин и 7 женщин. Анализ микробиоты был проведен до и после терапии. Степень тяжести оценивали согласно критериям Truelove-Witts: 7 пациентов в стадии медикаментозной ремиссии, 14 легкая степень атаки, 9 среднетяжелая степень атаки, 2 тяжелая степень атаки.

У пациентов в динамике были оценены следующие показатели: Фекальный кальпротектин, ОАК (СОЭ и гемоглобин), СРБ. На фоне сохранённой терапии (приема медикаментов) у пациентов не отмечено значимых изменений в анализах ни по одному критерию в результате лечения ТФМ (см. табл. 1, 2, 3, 4).

При сравнении микробиома по типам у пациентов с ЯК не отмечено достоверных различий со всеми группами сравнения и с донорами, см рисунок № 1. По родам бактерий данные противоречивы, что возможно связано с донорами. По результатам Vermeire et al [35] пациенты чаще показывают увеличение следующих филотипов: *Roseburia*, *Oscillibacter*, *unclassified Lachnospiraceae*, и неклассифицированные *Ruminococcaceae* в процессе лечения. До начала терапии у пациентов с ЯК регистрировали более низкую распространенность *Clostridium clusters XIVa* и *XVIII* [40, 41]. Несколько микробных таксонов были связаны с ремиссией, включая *Barnesiella* spp., *Parabacteroides* spp., *Clostridium cluster IV*, *Blautia* spp., *Dorea* spp. и *Ruminococcus* spp. В то время как *Fusobacterium* spp. и *Sutterella* spp. часто были связаны с отсутствием ремиссии [3, 4, 42]

У пациентов с КИ на уровне рода определены отличия см табл. № 5, рисунок № 2 по классу Firmicutes имевшим большее разнообразие, как с донорами, так и с пациентами других нозологических групп. В тоже время наши данные у пациентов с ЯК расходятся с данными других исследователей, так как клостридиальные кластеры у пациентов не отличались от здоровых пациентов.

У пациентов с СРК наблюдается наибольшее отличие по сравнению со всеми другими нозологическими группами и здоровыми пациентами связанное с преобладанием класса Firmicutes: неклассифицируемых *Lachnospiraceae*, *Lachnospiraceae gis*, *Ruminococcus*, *Phascolarctobacterium*.

Интересные показатели относительно *Blautia*, так сравнимы между собой пациенты с СРК и ЯК, в то время как доноры и пациенты с ЯК имели более низкое содержание данных микроорганизмов, то есть отмечается снижение Ruminococcaceae

На уровне ОТЕ у пациентов ЯК отмечается преобладание: *Eubacterium hallii* и *Blautia lutino* сравнительно с донорами и другими пациентами

Пациенты с КИ. При сравнении микробионого пейзажа в динамике на фоне лечения и положительной клинической картины ($p \leq 0,05$) отмечены изменения среди 12 таксономических единиц, табл. № 6

На фоне ФКТ произошло увеличение следующих ОТЕ: *Escherichia fergusonii*, *Ruminococcus torques*; снижение: Некл. *Clostridiales*, *Blautia luti*, *Blautia* sp., *Dorea longicatena*, *Ruminococcus faecis*, *Roseburia inulinivorans*, *Eubacterium hallii*, Некл. *Lachnospiraceae*

Менее значимые изменения отмечены в 10 ОТЕ, см табл. № 8. Интересно, что снизились бактерии *Bifidobacterium adolescentis* на фоне лечения.

В тоже время доминирующие ОТЕ на фоне терапии не изменились у пациентов, см. таблица № 9

Значение ФК мкг/г	группы	До ТФМ	После ТФМ	Ц	Б	НПВС/СА
норма	1	1	2	0	0	1
50–1800	2	13	22	1	0	12
> 1800	3	16	6	4	2	10
	сумма	30	30	5	2	23

Таблица 2.

Сравнение уровня фекального кальпротектина (ФК) у пациентов до и после ТФМ*

Примечание:

* $\chi^2 = 0.787$, критическое значение χ^2 при уровне значимости $p < 0.05$ составляет 5.991. Связь между факторным и резуль- тативным признаками статистически не значима, уровень значимости $p > 0.05$ ($p = 0.675$).

Table 2.

Comparison of fecal calprotectin (FC) levels in patients before and after TFM.

Значение Hb	группы	До ТФМ	После ТФМ	Ц	Б	НПВС/СА
норма	1	8	17	0	0	8
90–120/130	2	20	13	3	2	15
< 90	3	2	0	2	0	0
	сумма	30	30	5	2	23

Таблица 3.

Сравнение значений гемоглобина (Hb) у пациентов до и после ТФМ*

Примечание:

* $\chi^2 = 3.434$, критическое значение χ^2 при уровне значимости $p < 0.05$ составляет 5.991. Связь между факторным и резуль- тативным признаками статистически не значима, уровень значимости $p > 0.05$ ($p = 0.180$).

Table 3.

Comparison of hemoglobin (Hb) values in patients before and after TFM.

Таблица 4.

Сравнение значений СОЭ у пациентов до и после ТФМ*

Примечание:

* Лабораторные признаки воспаления по уровню СОЭ имели 22 пациента, по кальпротектину 29, по СРБ 18, понижение уровня гемоглобина наблюдалось у 22 человек.

Table 4.

Comparison of ESR values in patients before and after TFM

Значение СОЭ	группы	До ТФМ	После ТФМ	Ц	Б	НПВС/СА
0–20	1	8	22	0	0	8
20–30	2	16	6	1	0	15
> 30	3	6	2	4	2	0
	сумма	30	30	5	2	23

Таблица 5.

Обилие (%) бактериальных таксонов фекалий пациентов с различными заболеваниями (на уровне рода и ОТЕ)

Примечание:

* Разные буквы в строках обозначают, что разница значима на уровне $P \leq 0,05$ (дисперсионный анализ, критерий Манна-Уитни)

Table 5.

The abundance (%) of bacterial taxa of feces in patients with various diseases (at the genus level and OTU)

Название	Донор	КИ	СРК	ЯК
Род				
<i>Fecalibacterium</i>	16±10 ab	12±12 a	11±8 a	21±16 b
Uncl. <i>Lachnospiraceae</i>	3±1 a	3±2 a	5±5 b*	2±2 a
<i>Lachnospiraceae gis</i>	2±1 a	4±4 ab	4±3 b*	2±1 a
<i>Ruminococcus 2</i>	1±1 a	1±2 ab	2±1 b*	1±1 a
Uncl. <i>Firmicutes</i>	0.4±0.4 a	2±2 b*	1±1 a	1±1 a
<i>Phascolarctobacterium</i>	1±1 a	1±1 a	2±2 b*	0.3±0.4 a
<i>Collinsella</i>	1±1 ab	2±3 b	1±1 ab	0.4±0.6 a
<i>Fusicatenibacter</i>	0.6±0.6 ab	0.4±0.5 a	1±2 b	0.4±0.4 a
<i>Bifidobacterium</i>	8±17 a	4±6 a	7±11 a	12±12 a
<i>Blautia</i>	2±2 a	6±9 ab	8±7 b*	9±10 b*
ОТЕ (Operational taxonomic unit)				
<i>Fecalibacterium prausnitzii</i>	2±1 ab	2±3 ab	2±2 a	5±6 b
<i>Eubacterium hallii</i>	1±2 a	0.4±0.3 a	2±2 b*	1±1 a
Uncl. <i>Clostridiales</i>	0.4±0.8 ab	2±3 b	0±0.1 a	1±2 b
<i>Blautia luti</i>	0.4±0.4 a	0.4±0.4 a	2±2 b*	1±1 a
<i>Bifidobacterium sp.</i>	7±18 ab	1±2 a	1±2 a	5±8 b

Таблица 6.

Обилие (%) бактериальных таксонов фекалий пациентов с различными заболеваниями (на уровне класса, порядка, семейства)

Table 6.

The abundance (%) of bacterial taxa of feces of patients with various diseases (at the level of class, order, family)

Название	Группа пациентов			
	Доноры	КИ	СРК	ЯК
Класс				
Некл. <i>Firmicutes</i>	0,4±0,4 a*	2±2 b	1±1 a	1±1 a
<i>Spirochaetia</i>	0±0 ab	0,5±1,6 b	0±0 a	0±0 a
Порядок				
Некл. <i>Firmicutes</i>	0,4±0,4 a	2±2 b	1±1 a	1±1 a
Семейство				
<i>Ruminococcaceae</i>	36±14 ab	34±18 ab	26±13 a	38±17 b
<i>Lachnospiraceae</i>	22±12 ab	23±17 a	32±13 b	24±13 a
Некл. <i>Firmicutes</i>	0,4±0,3 a	2±2 b	1±1 a	1±1 a
<i>Acidaminococcaceae</i>	1±1 ab	1±1 a	2±2 b	0,4±0,5 a
<i>Rikenellaceae</i>	0,2±0,2 a	0,8±0,7 b	0,5±0,5 a	0,2±0,2 a

Таблица 7.

Изменение ($P \leq 0,05$) относительного обилия ОТЕ до и после трансплантации фекалий у пациентов с инфекцией *C. difficile*

Table 7.

Change ($P \leq 0,05$) in the relative abundance of OTUs before and after transplantation of feces in patients with *C. difficile* infection

ОТЕ	До	После	p
1. Некл. <i>Clostridiales</i>	1,46	0,33	0,046
2. <i>Escherichia fergusonii</i>	0,17	2,84	0,043
3. <i>Blautia luti</i>	0,68	0,40	0,050
4. <i>Blautia sp.</i>	1,91	0,76	0,025
5. <i>Dorea longicatena</i>	1,54	0,61	0,025
6. <i>Ruminococcus faecis</i>	2,04	0,38	0,012
7. <i>Roseburia inulinivorans</i>	0,70	0,17	0,036
8. Некл. <i>Clostridiales</i>	0,56	0,42	0,039
9. <i>Eubacterium hallii</i>	1,17	0,61	0,036
10. Некл. <i>Clostridiales</i>	0,71	0,32	0,017
11. <i>Ruminococcus torques</i>	0,14	0,34	0,043
12. Некл. <i>Lachnospiraceae</i>	0,97	0,28	0,018
Доля от общего числа последовательностей	12,1	7,5	
Число ОТЕ	12		

ОТЕ	До	После	p
1. <i>Bifidobacterium adolescentis</i>	2,4	1,4	0,080
2. <i>Ruminococcus obeum</i>	1,0	0,4	0,093
3. Некл. <i>Ruminococcaceae</i>	0,2	1,7	0,069
4. <i>Lachnospiraceae sp.</i>	1,0	0,6	0,069
5. <i>Catenibacterium mitsuokai</i>	0,6	0,1	0,068
6. Некл. <i>Ruminococcaceae</i>	0,2	0,8	0,091
7. <i>Holdemania bififormis</i>	0,8	0,3	0,063
8. Некл. <i>Lachnospiraceae</i>	1,4	0,1	0,080
9. <i>Clostridium sp.</i>	0,9	0,2	0,080
10. <i>Olsenella</i>	0,7	0,2	0,068
Доля от общего числа последовательностей	8,9	5,7	
Число ОТЕ	10		

Таблица 8.

Изменение ($P \leq 0,10$) относительного обилия ОТЕ до и после трансплантации фекалий у пациентов с инфекцией *C. difficile*

Table 8.

Change ($P \leq 0.10$) in the relative abundance of OTUs before and after transplantation of feces in patients with *C. difficile* infection

ОТЕ	До	После	p
1. <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	1,6	2,0	0,67
2. <i>Blautia wexlerae*</i>	8,9	9,3	0,78
3. Некл. <i>Lachnospiraceae</i>	3,8	3,3	0,58
4. <i>Bifidobacterium adolescentis</i>	2,4	1,4	0,08
5. <i>Bifidobacterium</i>	1,2	4,3	0,18
6. <i>Ruminococcus bromii</i>	1,5	<0,1	0,23
7. <i>Gemmiger formicilis*</i>	4,2	3,1	0,67
8. <i>Collinsella aerofaciens*</i>	5,2	3,0	0,12
9. Некл. <i>Clostridiales</i>	1,0	2,3	0,40
10. <i>Roseburia faecis</i>	<0,1	1,0	0,89
11. <i>Streptococcus salivarius</i>	<0,1	2,1	0,87
12. Некл. <i>Ruminococcaceae</i>	1,8	2,1	0,75
13. <i>Eubacterium hallii</i>	3,1	2,3	0,12
14. Некл. <i>Clostridiales</i>	1,5	<0,1	0,046

Таблица 9.

Доминирующие ОТЕ ($\geq 1\%$ обилия) до и после трансплантации фекалий у пациентов с инфекцией *C. difficile*

Примечание:

*Жирным шрифтом выделены первые три доминанты

Table 9.

Dominant OTUs ($\geq 1\%$ abundance) before and after fecal transplantation in patients with *C. difficile* infection

Заключение

Таким образом, резюмируя полученные данные, можно сделать следующие выводы:

- Пациенты с разными заболеваниями отличались по таксономической структуре бактериальных ансамблей фекалий как между собой, так и с донорами фекалий (кроме уровня типа).
- Основными типами бактерий в содержимом толстого кишечника являлись Firmicutes (72% в среднем по всем группам), *Bacteroidetes* (14%) и *Actinobacteria* (11%).
- Лабораторная эффективность после однократной пересадки фекальной микрофлоры составила 91% у пациентов с КИ
- Основными доминантными ОТЕ у пациентов с КИ были *Blautia wexlerae*, *Gemmiger formicilis* (класс Clostridia) и *Collinsella* (класс Actinobacteria).
- ФКТ повлияла на структуру бактериальных ансамблей, изменив у пациентов с КИ обилие 22 ОТЕ; суммарно произошло снижение с 21% до 13% от общего числа последовательностей. Основными доминантными ОТЕ были из класса Clostridia: *Blautia wexlerae* и *Gemmiger formicilis*, из класса Actinobacteria – *Collinsella*.
- Основными типами бактерий в содержимом толстого кишечника являлись Firmicutes (72% в среднем по всем группам), *Bacteroidetes* (14%) и *Actinobacteria* (11%).
- Осложнений, связанных с ТФМ не отмечено.
- Микробиом пациентов с ЯК до проведения ТФМ характеризовался низким уровнем разнообразия

микробиоты, тогда как у доноров разнообразие микробиоты было гораздо выше.

- У пациентов с ЯК уровне ОТЕ отмечается преобладание: *Eubacterium hallii* и *Blautia lutino* сравнению с донорами и другими пациентами
- Клиническая картина у пациентов с ЯК улучшилась (уменьшение частоты стула, улучшение качества стула), по лабораторным данным улучшение не достоверно.

Нами также было установлено, что надосадочная жидкость водной суспензии фекалий доноров, содержащая микробные экзометаболиты и другие биологически активные соединения, оказывает в короткие сроки наиболее выраженное влияние на восстановление нормальной кишечной микрофлоры у пациентов с клостридиальной инфекцией. Однако в целом, требуется дальнейшая работа для определения того, можно ли идентифицировать особенности микробиоты у некоторых пациентов с ЯК, которые предсказывают успешное лечение с помощью той или иной терапии [2–5]. Возможно, что необнаруженные изменения виroma и грибкового профиля происходят у ответчиков на лечение. Бактериальный, вирусный или грибковый профиль, необходимый для успешного лечения ЯК, неясен и может потребовать «персонализированной микробной медицины», чтобы идентифицировать идеального пациента с ЯК, который будет реагировать на микробную терапию.

Литература | References

1. Корниенко Е.А., Хавкин А.И., Федулова Е.Н., Волюнец Г.В., Габруская Т.В., Скворцова Т.А., Никитин А.В., Сорвачева Т.Н., Цимбалова Е.Г., Щербакова О.В. Болезнь Крона у детей: диагностика и лечение. В сборнике: Избранные труды Общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов «Детская гастроэнтерология 2019» Избранные труды Общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов. Под общей редакцией А.И. Хавкина, В.П. Новиковой, Г.В. Волюнец. Москва-Санкт-Петербург, 2019. С. 77–131.
Kornienko E. A., Khavkin A. I., Fedulova E. N., et al. Crohn's disease in children: diagnosis and treatment. In the collection: Selected works of the Society of Pediatric Gastroenterologists, Hepatologists and Nutritionists "Children's Gastroenterology 2019" Selected works of the Society of Pediatric Gastroenterologists, Hepatologists and Nutritionists. Moscow-St. Petersburg, 2019. pp. 77–131.
2. Шрайнер Е.В., Морозов В.В., Хавкин А.И., Власов В.В., Куликов В.Г., Кольцова С.Т. Опыт проведения трансплантации фекальной микробиоты у пациентки с клостридиальной инфекцией. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018. № 12 (160). С. 80–83 DOI: 10.31146/1682–8658-ecg-160–12–80–83
Shrainger E. V., Morozov V. V., Khavkin A. I., et al. Experience with transplantation of fecal microbiota in a patient with clostridial infection. Experimental and clinical gastroenterology. 2018. No 12 (160), pp. 80–83. DOI: 10.31146 / 1682–8658-ecg-160–12–80–83
3. Хавкин А.И., Шрайнер Е.В., Денисов М.Ю., Деровс А.А., Горелова Ю.С. Трансплантация фекальной микрофлоры при воспалительных заболеваниях кишечника у детей: опыт и перспективы. Вопросы практической педиатрии. 2018. Т. 13. № 3. С. 20–28. DOI: 10.20953/1817–7646–2018–3–20–28.
Khavkin A. I., Shrainger E. V., Denisov M. Yu., Derovs A. A., Gorelova Yu. S. Transplantation of fecal microflora in inflammatory bowel diseases in children: experience and prospects. Questions of practical pediatrics. 2018. Vol. 13, No. 3, pp. 20–28. DOI: 10.20953 / 1817–7646–2018–3–20–28
4. Хавкин А.И., Алёшкин А.В., Зейгарник М.В. Перспективы фаготерапии при болезнях органов пищеварения у детей. Вопросы практической педиатрии. 2018. Т. 13. № 4. С. 82–90. DOI: 10.20953/1817–7646–2018–4–82–90.
Khavkin A. I., Alyoshkin A. V., Zeigarnik M. V. Prospects for phage therapy for diseases of the digestive system in children. Questions of practical pediatrics. 2018, Vol. 13, No. 4, pp. 82–90. DOI: 10.20953 / 1817–7646–2018–4–82–90
5. Корниенко Е.А., Хавкин А.И., Федулова Е.Н., Волюнец Г.В., Габруская Т.В., Скворцова Т.А., Никитин А.В., Сорвачева Т.Н., Цимбалова Е.Г., Щербакова О.В. Проект рекомендаций Российского общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов по диагностике и лечению болезни Крона у детей. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019. № 11 (171). С. 100–134. DOI: 10.31146/1682–8658-ecg-171–11–100–134
Kornienko E. A., Khavkin A. I., Fedulova E. N., et al. Draft recommendations of the Russian Society of Pediatric Gastroenterologists, Hepatologists and Nutritionists on the Diagnosis and Treatment of Crohn's Disease in Children. Experimental and clinical gastroenterology. 2019. No 11 (171), pp. 100–134. DOI: 10.31146 / 1682–8658-ecg-171–11–100–134.
6. Khanna S, Raffals LE. The Microbiome in Crohn's Disease: Role in Pathogenesis and Role of Microbiome Replacement Therapies. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017 Sep;46(3):481–492. doi: 10.1016/j.gtc.2017.05.004. Epub 2017 Jul 19.
7. van Nood E, Dijkgraaf MG, Keller JJ. Duodenal infusion of feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013;368(22):2145. Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, et al. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2013;108:500–508.
8. Inflammatory Bowel Disease Collaborators *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5: 17–30, doi.org/10.1016/S2468–1253(19)30333–4
9. Khan KJ, Ullman TA, Ford AC, et al. Antibiotic therapy in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2011;106:661–673.
10. Chibbar R, Dieleman LA. Probiotics in the management of ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol.* 2015;49(suppl 1): S50–S55
11. Moayyedi P. Fecal transplantation: any real hope for inflammatory bowel disease? *Curr Opin Gastroenterol.* 2016;32:282–286
12. Chen SJ, Liu XW, Liu JP, Yang XY, Lu FG. Ulcerative colitis as a polymicrobial infection characterized by sustained broken mucus barrier. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 28;20(28):9468–9475. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9468
13. Sartor RB, Wu GD. Roles for Intestinal Bacteria, Viruses, and Fungi in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Therapeutic Approaches. *Gastroenterology.* 2017 Feb;152(2):327–339.e4. doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.012.
14. Waldschmitt N, Metwaly A, Fischer S, Haller D. Microbial Signatures as a Predictive Tool in IBD–Pearls and Pitfalls. *Inflamm Bowel Dis.* 2018 May 18;24(6):1123–1132. doi: 10.1093/ibd/izy059
15. Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol.* 2014 May;14(5):329–342. doi: 10.1038/nri3661.
16. Miner-Williams WM, Moughan PJ. Intestinal barrier dysfunction: implications for chronic inflammatory conditions of the bowel. *Nutr Res Rev.* 2016 Jun;29(1):40–59. doi: 10.1017/S0954422416000019.
17. Vignæs LK, Brynskov J, Steenholdt C, Wilcks A, Licht TR. Gram-negative bacteria account for main differences between faecal microbiota from patients with ulcerative colitis and healthy controls. *Benef Microbes.* 2012 Dec 1;3(4):287–297. doi: 10.3920/BM2012.0018.
18. Wrzosek L, Miquel S, Noordine ML, Bouet S, et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol.* 2013 May 21;11:61. doi: 10.1186/1741–7007–11–61
19. Lozupone CA, Stombaugh JJ, Gordon JJ, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature.* 2012 Sep 13;489(7415):220–230. doi: 10.1038/nature11550.
20. Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Вахитов Т.Я. Фило-метаболическое ядро микробиоты кишечника // Альманах клинической медицины. – 2015. – № 40. – С. 12–34. – doi: 10.18786/2072–0505–2015–40–12–34

- Sitkin S. I., Tkachenko E. I., Vakhitov T. Ya. Phylo-metabolic core of intestinal microbiota. *Clinical medicine almanac*. 2015, No. 40, pp. 12–34. doi: 10.18786/2072-0505-2015-40-12-34
21. Salonen A, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. The adult intestinal core microbiota is determined by analysis depth and health status. *Clin Microbiol Infect*. 2012 Jul;18 Suppl 4:16–20. doi: 10.1111/j.1469-0691.2012.03855.x
 22. Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, et al. Huttenhower C. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol*. 2012 Apr 16;13(9):R79. doi: 10.1186/gb-2012-13-9-r79
 23. Machiels K, Joossens M, Sabino J, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2014 Aug;63(8):1275–1283. doi: 10.1136/gutjnl-2013-304833.
 24. Takahashi K, Nishida A, Fujimoto T, Fujii M, Shioya M, Imaeda H, Inatomi O, Bamba S, Sugimoto M, Andoh A. Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease. *Digestion*. 2016;93(1):59–65. doi: 10.1159/000441768.
 25. Duboc H, Rajca S, Rainteau D, et al. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut*. 2013 Apr;62(4):531–539. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302578.
 26. Ситкин С. И., Вахитов Т. Я., Ткаченко Е. И., Орешко Л. С., Жигалова Т. Н., Радченко В. Г., Селиверстов П. В., Авалуева Е. Б., Суворова М. А., Комличенко Э. В. Микробиота кишечника при язвенном колите и целиакии // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 1 (137). – С. 8–30.

Sitkin S. I., Vakhitov T. Ya., Tkachenko E. I., et al. Intestinal microbiota in colitis and celiac disease. *Experimental and clinical gastroenterology*. – 2017, No. 1 (137), pp. 8–30.
 27. Rehman A, Rausch P, Wang J, Skieceviciene J, et al. Geographical patterns of the standing and active human gut microbiome in health and IBD. *Gut*. 2016 Feb;65(2):238–248. doi: 10.1136/gutjnl-2014-308341
 28. Kang S, Denman SE, Morrison M, Yu Z, Dore J, Leclerc M, McSweeney CS. Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray. *Inflamm Bowel Dis*. 2010 Dec;16(12):2034–2042. doi: 10.1002/ibd.21319.
 29. Vigsnaes LK, van den Abbeele P, Sulek K, et al. Microbiotas from UC patients display altered metabolism and reduced ability of LAB to colonize mucus. *Sci Rep*. 2013;3:1110. doi: 10.1038/srep01110.
 30. Fite A, Macfarlane S, Furrer E, Bahrami B, Cummings JH, Steinke DT, Macfarlane GT. Longitudinal analyses of gut mucosal microbiotas in ulcerative colitis in relation to patient age and disease severity and duration. *J Clin Microbiol*. 2013 Mar;51(3):849–856. doi: 10.1128/JCM.02574-12.
 31. Fyderek K, Strus M, Kowalska-Duplaga K, et al. Mucosal bacterial microflora and mucus layer thickness in adolescents with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2009 Nov 14;15(42):5287–5294. doi: 10.3748/wjg.15.5287.
 32. Kabeerdoss J, Jayakanthan P, Pugazhendhi S, Ramakrishna BS. Alterations of mucosal microbiota in the colon of patients with inflammatory bowel disease revealed by real time polymerase chain reaction amplification of 16S ribosomal ribonucleic acid. *Indian J Med Res*. 2015 Jul;142(1):23–32. doi: 10.4103/0971-5916.162091.
 33. Thorkildsen LT, Nwosu FC, Avershina E, et al. Dominant fecal microbiota in newly diagnosed untreated inflammatory bowel disease patients. *Gastroenterol Res Pract*. 2013;2013:636785. doi: 10.1155/2013/636785
 34. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, et al. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis*. 2009 Aug;15(8):1183–1189. doi: 10.1002/ibd.20903.
 35. Paramsothy S, Paramsothy R, Rubin DT, Kamm MA, Kaakoush NO, Mitchell HM, Castaño-Rodríguez N. Faecal Microbiota Transplantation for Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2017 Oct 1;11(10):1180–1199. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjx063.
 36. Narula N., Kassam Z., Yuan Y. et al. Systematic review and meta-analysis: fecal microbiota transplantation for treatment of active ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2017;0:1–8
 37. Nagao-Kitamoto H, Kitamoto S, Kuffa P, Kamada N. Pathogenic role of the gut microbiota in gastrointestinal diseases. *Intest Res*. 2016 Apr;14(2):127–138. doi: 10.5217/ir.2016.14.2.127.
 38. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. – 2011. – Vol. 53 – P. 994–1002
 39. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, et al. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2015;149:102–109. e6.
 40. Vermeire S, Joossens M, Verbeke K, et al. Donor species richness determines faecal microbiota transplantation success in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2016;10:387–394.
 41. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, et al. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2015;149:110–108. e4
 42. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, et al. Multi-donor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2017;389:1218–1228.