



DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-80-83

УДК 616.98:616.34–008.87:616.34–008.314.4

Опыт проведения трансплантации фекальной микробиоты у пациентки с клостридиальной инфекцией

Шрайнер Е. В.¹, Морозов В. В.¹, Хавкин А. И.², Власов В. В.¹, Куликов В. Г.¹, Кольцова С. Т.¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

² НИКИ педиатрии им. Ю. Е. Вельтищева РНИМУ им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия

The experience of the fecal microbiota transplantation in a patient with clostridial infection

E. B. Schreiner¹, V. V. Morozov¹, A. I. Khavkin², V. V. Vlasov¹, V. D. Kulikov¹, S. T. Koltsova¹

¹ Institute of General Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Yu. E. Veltishev Research and Clinical Institute for Pediatrics of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow 125412, Russia

Для цитирования: 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;160(12): 80–83. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-80-83

For citation: Schreiner E. B., Morozov V. V., Khavkin A. I., Vlasov V. V., Kulikov V. D., Koltsova S. T. The experience of the fecal microbiota transplantation in a patient with clostridial infection. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2018;160(12): 80–83. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-80-83

✉ **Corresponding author:**

Шрайнер

Евгения Владимировна

Evgenia V. Schreiner

sch704@icloud.com

Шрайнер Евгения Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории восстановительной медицины

Морозов Виталий Валерьевич

Хавкин Анатолий Ильич, д.м.н., профессор, заведующий отделом гастроэнтерологии

Власов Валентин Викторович

Куликов Виталий Геннадьевич

Кольцова Светлана Тимофеевна

Резюме.

В последние десятилетия на фоне широкого распространения и, нередко, необоснованной антибиотикотерапии отмечается рост инфекции *Clostridium difficile* (CDI) за счет гипervirulentных штаммов. Согласно международным протоколам лечения CDI, метронидазол и ванкомицин являются стартовой терапией для пациентов с впервые выявленной инфекцией, даже несмотря на то, что вероятность рецидива составляет около 65%. Кроме того, повышенный интерес к CDI связан с необходимостью разработки и использования альтернативных стратегий, направленных на профилактику и повышение эффективности лечения. В этой связи нами впервые проведена трансплантация фекальной микрофлоры для этой группы больных в России. Эта альтернативный метод лечения устраняет споры *C. difficile*, восполняет нормальную кишечную флору, снижает уровень вегетативных форм *C. difficile* в кишечнике, поддерживает собственную иммунную реакцию пациента.

Ключевые слова: CDI, клостридиальная инфекция, трансплантация фекальной микробиоты, диарея

Summary

In recent decades, against the background of widespread and, often, unfounded antibiotic therapy, an increase in *Clostridium difficile* infection (CDI) due to hypervirulent strains has been observed. According to international CDI treatment protocols, metronidazole and vancomycin are starting therapy for patients with newly diagnosed infections, even though the likelihood of a relapse is about 65%. In addition, the increased interest in CDI is associated with the need to develop and use alternative strategies aimed

at preventing and increasing the effectiveness of treatment. In this regard, we first transplanted fecal microflora for this group of patients in Russia. This alternative method of treatment removes the spores of *C. difficile*, replenishes the normal intestinal flora, reduces the level of vegetative forms of *C. difficile* in the intestines, and supports the patient's own immune response.

Key words: CDI, clostridial infection, fecal microbiota transplantation, diarrhea

Введение

Впервые о инфекции *Clostridium difficile* (CDI) было заявлено в 1935 году, но вероятно эта проблема существовала и ранее на протяжении веков [1,2]. До недавнего времени заболевание было редким и редко угрожало жизни [3]. За последние 20 лет количество случаев CDI возросло более, чем в 2 раза, а также регистрируются и смертные случаи [4]. По данным зарубежных исследователей госпитальная летальность от CDI составляет 5% [5].

Генотипирование *C. difficile* в начале 2000-х годов показало, что патогенный штамм (BI /NAP1/027) имеет делецию в 18 паре, что приводит к увеличенной антибиотикорезистентности и более чем в 10 раз увеличивается продукция обоих типов токсинов [6]. Антибиотикорезистентный штамм *C. difficile* является серьезной проблемой, особенно для госпитализированных пациентов. Так в 2011 г. CDI была зарегистрирована более чем в 450000 стационарных случаев в США, в результате чего погибло почти 30000 человек! В денежном эквиваленте расходы из-за инфекции дополнительно составили 1,5 миллиарда долларов США [7].

Материалы и методы

Группой исследователей ИХБФМ и РНИМУ был разработан адаптированный протокол лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта с помощью пересадки нормальной кишечной микрофлоры от здорового донора. Был создан банк материала, полученного от нескольких универсальных доноров, для последующей пересадки. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Подбор донора осуществлялся согласно требованиям Национального института здоровья США [19]

1. Донор не должен использовать антибиотики в течение 3 месяцев до начала процедуры.
2. У донора не должно быть следующих заболеваний: диарея, запор, синдром раздраженного кишечника (СРК), хронические воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), колоректальный рак, иммуносупрессия, использование противоопухолевых препаратов, ожирение, метаболический синдром, атопические заболевания, аутоиммунные заболевания, гастроинтестинальный полипоз.

Обследование донора включало:

1. Кровь на гепатит А, В, С, ВИЧ, сифилис.
2. Кал на яйца гельминтов, антиген *Helicobacter pylori*, лямблиоз, *Salmonella*, *Shigella*.

Фекальная трансплантация микробиоты (ТФМ) была предложена, как метод лечения CDI резистентной к антибиотикотерапии. Хотя данный способ терапии разных заболеваний впервые был описан более 1000 лет назад [8], его только недавно стали использовать в клинической практике [9].

Последние европейские [10,11] и канадские [12] рекомендации говорят об использовании ТФМ в лечении резистентных форм CDI. При ТФМ используется микробиологически активная взвесь и серьезных побочных эффектов пока не выявлено. Считается, что фундаментальная проблема CDI заключается не только в наличии патогенного микроорганизма как такового, а и в отсутствии «здоровой» микрофлоры, способной подавлять рост возбудителя [13]. Соответственно, восстановление бактериального гомеостаза в толстой кишке может подавлять неконтролируемый рост *Cl. difficile*.

Таким образом, цель исследования заключалась в изучении эффективности ТФМ в лечении пациентов с рецидивирующей CDI, которым ранее был проведен курс стандартной антибиотикотерапии.

3. В анамнезе у донора не было процедур татуировок и пирсинга в ближайшие 6 месяцев перед процедурой.

Процедура ТФМ заключается в заборе материала у донора, при этом накануне вечером он получает слабительное. Реципиент за 1–3 дня до процедуры прекращает получение антибиотиков, а накануне при «нижнем» способе процедуры проходит стандартную подготовку к колоноскопии. «Верхний» способ доставки материал не требует специальной подготовки реципиента. Объем донорского кала составлял 250–300 г.

Суспензию для ТФМ готовили с использованием физиологического раствора.

Раствор готовился непосредственно перед процедурой с соблюдением всех мер предосторожности. Свежий кал гомогенизировался с физиологическим раствором с помощью миксера. Полученный раствор фильтровался при помощи фильтра для кофе. Объем используемого фильтрата зависел от способа введения: 50 мл (назогастральный зонд) или 400–500 мл (для колоноскопии) [20].

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 часов удерживал донорский кал, находясь на постельном режиме.

До ТФМ проводилось общеклиническое обследование, включавшее в себя: респрос и осмотр пациента, общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, ИФА на гепатиты

и ВИЧ, копрограмма, ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости, фиброколоноскопия или/и фиброэзофагогастроуденоскопия.

Результаты и их обсуждение

В нашей клинике была проведена процедура ТФМ пациентам с CDI.

Пациентка Г., 41 год. Считает себя больной в течение 5 лет, когда после курса антибиотикотерапии появилась диарея (жидкий стул до 3-х раз в сутки). Ранее наблюдалась с диагнозом «Синдром раздраженного кишечника» с преобладанием запоров. Долихосигма». Неоднократно получала лечение по поводу дисбактериоза кишечника различными пробиотиками. В 2009 г обратилась ФБУН МНИ-ИЭМ им. Габричевского, где при посеве кала была выявлена гемолитическая кишечная палочка. Проведена терапия метронидазолом, цiproфлораксацином. На фоне лечения жидкий стул сохранялся, а также появились прожилки крови в стуле.

В январе 2010 года прошла амбулаторное обследование в ГНЦ колопроктологии (г. Москва). Выявлена положительная реакция на токсины *Cl. Difficile* и проведено лечение ванкомицином в течение 7 дней. При проведении контрольного исследования токсины не обнаружены, однако сохранялись боли в животе, метеоризм, диарея, тенезмы без существенной динамики.

В июле 2010 г. прошла стационарное лечение в ГНЦ колопроктологии. Установлен диагноз: «Антибиотикоассоциированный колит, дисбактериоз 2 ст., полип прямой кишки». В анализе кала выявлены токсины А и В *Cl. difficile*. Проводилось ле-

чение: панкреатические ферменты, спазмолитики, сорбенты, метронидазол и ванкомицин. В контрольном анализе кала токсины А и В *Cl. difficile* не выявлены, клинически отмечена незначительная положительная динамика.

В 2011 г. пациентка получала лечение по поводу антибиотикоассоциированной диареи. Проводилась терапия спазмолитиками, противомикробными препаратами, сорбентами, пре- и пробиотиками. Выписана с незначительной положительной динамикой.

В 2013 г. отмечено повышение концентрации кальпротектина – 2.3 верхних границ нормы, в течение 2 лет пациентка постоянно принимала различные пробиотики длительными курсами, ограничила в рационе свежие фрукты и овощи, а также самостоятельно приобрела дификлир и прошла 2 курса с разницей в полгода. В анализе кала от 08.04.2015 г. обнаружен токсин В *Cl. difficile*. Обратилась в Центр для проведения ТФМ с жалобами на кашицеобразный стул 1–3 раза в день, отрыжку, дискомфорт в кишечнике. При обследовании в центре также выявлена анемия легкой степени тяжести.

После проведения процедуры ТФМ контрольные анализы на токсины *Cl. difficile* отрицательные (21.05.14, 1.09.14), клиническая динамика положительная.

Обсуждение результатов

У пациентки с CDI, которой была проведена ТФМ после многократных попыток лечения метронидазолом, ванкомицином, а также дификлиром, отмечаются положительные клиническая динамика и изменения лабораторных показателей. Данные наблюдения согласуются с результатами зарубежных коллег при сравнении эффективности ТФМ vs ванкомицин/плацебо.

Пять рандомизированных клинических исследований были проведены для сравнения эффективности ТФМ с плацебо или ванкомицином [14–18]. Всего в исследованиях участвовало 284 пациентов с КИ. Данные авторов разнятся по эффективности ТФМ: ряд авторов говорят о несомненном превосходстве ТФМ по сравнению с ванкомицином [14, 15], по данным других авторов ТФМ не является столь успешным методом лечения.

При этом van Nood E. [14] и соавторы проводили лечение не только оральным ванкомицином, но и использовали его путем введения через колоноскоп. При этом 81% достигли ремиссии на ТФМ, 31% при оральном употреблении ванкомицина и 23% путем введения через колоноскоп. По результатам Sammaroto G. [15] выздоровление

достигнуто у 90% пациентов с использованием ТФМ и у 26% лечившихся ванкомицином. В то время как по данным Nota S. S. [16] наоборот ванкомицин показал более превосходящие результаты в лечение КИ. Так в данном исследовании участвовали 2 группы пациентов: первая группа в течение 14 дней принимающих ванкомицин per os, а затем получавшая ТФМ 500 мл путем колоноскопии; вторая группа получала орально ванкомицин в течение 6 недель. Исследование было прекращено при промежуточном анализе после рандомизации 30 пациентов. Девять из 16 (56,2%) пациентов, получавших ТФМ и 5 из 12 (41,7%) в группе ванкомицина, испытали рецидив КИ, соответствующий разрешению симптомов в 43,8% и 58,3% соответственно. Анализ фекальной микробиоты 3-х успешных реципиентов ФТ показал повышенное разнообразие. Анализ бесполезности данного исследования досрочно завершил его.

Kelly C. R. и соавт. [17] проводили сравнение донорского и аутологичного стула, при этом те пациенты которые получали донорский стул в 90,9% достигли клинического излечения от КИ, а с аутологичным стулом 62,5% (P = 0.042).

Также интереснее данные представлены группой исследователей [18–20] относительно капсулированной микробиоты – лучший результат по излечению показала группа пациентов, принимающая 1 капсулу с донорским калом и 1 плацебо,

по сравнению с 2 капсулами микробиоты или 2 капсулами кала – 67%, 61% и 45% соответственно.

Хочется отметить несомненный экономический эффект в лечении ТФМ по сравнению с антибиотикотерапией.

Заключение

В связи с быстрым и активным изучением микробиоты изменился взгляд на патогенез различных заболеваний и, следовательно, на терапию соответствующих пациентов. Влияние микробиоты и выделение возможно определенной группы бактерий или веществ, продуцируемых ими, возможно, будет ключевым моментом в патологической цепной реакции взаимодействия клеток и их метаболитов в органах мишенях.

Собственный клинический опыт подтверждает имеющиеся данные других исследователей об эффективности ТФМ. Эту методику отличает патогене-

тическая ориентация воздействий – на последствия применения антибиотиков, негативно влияющих на кишечную микрофлору, так же уменьшается риск возникновения проблем, связанных с применением противомикробных препаратов – появление резистентных к последним кишечных бактериальных штаммов, аллергических реакций. Снижение интенсивности воспалительных и аутоиммунных реакций положительно сказывается на течении заболеваний, важным является уменьшение антигенной нагрузки.

Данная методика применена в клинической практике России впервые.

Литература | References

- Hall I, O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935; 49: 390.
- Heinlen L, Ballard JD. *Clostridium difficile* infection. *Am J Med Sci* 2010; 340: 247–252.
- Bartlett JG. *Clostridium difficile*: history of its role as an enteric pathogen and the current state of knowledge about the organism. *Clin Infect Dis* 1994; 18 (Suppl 4): S265–S272.
- Reveles KR, Lee GC, Boyd NK, Frei CR. The rise in *Clostridium difficile* infection incidence among hospitalized adults in the United States: 2001–2010. *Am J Infect Control* 2014; 42: 1028–1032.
- Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 2015; 372: 1539–1548.
- O'Connor JR, Johnson S, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection caused by the epidemic BI/NAP1/027 strain. *Gastroenterology* 2009; 136: 1913–1924.
- Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, et al. Burden of *Clostridium difficile* in the United States. *N Engl J Med* 2015; 372: 825–834.
- Zhang F, Luo W, Shi Y, et al. Should we standardize the 1700-year old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1755.
- Borody TJ, Brandt LJ, Paramsothy S. Therapeutic faecal microbiota transplantation: current status and future developments. *Curr Opin Gastroenterol* 2014; 30: 97–105.
- Debast SB, Bauer MP, Kuipers EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 (Suppl 2): 1–26.
- Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut* 2017; 66: 569–580.
- Moayyedi P, Marshall JK, Yuan Y, Hunt R. Canadian Association of Gastroenterology position statement: fecal microbiota transplant therapy. *Can J Gastroenterol Hepatol* 2014; 28: 66–68.
- McFarland LV, Mulligan ME, Kwok RYY, Stamm WE. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection // *N Engl J Med*. – 1989. – Vol. 320. – P. 204–10;
- van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013; 368: 407–415.
- Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 41: 835–843.
- Hota SS, Sales V, Tomlinson G, et al. Oral vancomycin followed by fecal transplantation versus tapering oral vancomycin treatment for recurrent *Clostridium difficile* infection: an open-label, randomized controlled trial. *Clin Infect Dis* 2017; 64: 265–271.
- Kelly CR, Khoruts A, Staley C, et al. Effect of fecal microbiota transplantation on recurrence in multiply recurrent *Clostridium difficile* infection. *Ann Intern Med* 2016; 165: 609–616.
- Orenstein R, Dubberke E, Lee CH, et al. RBX2660, a microbiota-based drug for the prevention of recurrent *Clostridium difficile* infection, is safe and effective: results from a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial (abstract LB08). 24th UEG Week 2016; Vienna (Austria), 17e19 Oct 2016. *United European Gastroenterol J* 2016; 4: 802.
- 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;
- You DM, Franzos MA, Holman RP. Successful treatment of fulminant *Clostridium difficile* infection with fecal bacteriotherapy // *Ann. Intern. Med.* – 2008. – Vol. 148(8). – P. 632–633.