FMT (трансплантация на фекален микробиом) като една от алтернативите на антибиотичното лечение при хора и продуктивни животни с цел справяне с антимикробната резистентност

Научен обзор

От откриването и приложението на пеницилина през 40-те години на миналия век антибиотиците играят несравнима роля в превенцията, контрола и лечението на инфекциозни заболявания при хората и животните. Доказано е също така, че употребата на антибиотици във фуражите за животни е важен начин за насърчаване на растежа на животните и за подобряване на качеството на животинските продукти и са ефективни инструменти за осигуряване на развитието на интензивна и мащабна земеделска индустрия. **Неразумната и масова употреба на антибиотици в последните години, обаче, доведе до висок риск от развитието на резистентни бактерии** (*Aarestrup et al., 1998*), която доведе до прехвърляне на резистентни бактерии и резистентни гени от животни към хора *(Stanton, 2013)*. Антимикробната употреба с нетерапевтична цел също е механизъм за разпространение на мултирезистентността (MDR), включително и за развиване на резистентност към АМС (антимикробни средства), които никога не са били използвани във фермите (*Marshall and Levy, 2011*).

Ветеринарната употреба на антимикробни средства представлява заплаха за човешкото здраве поради възможния трансфер на устойчиви бактерии от животните върху хората както и прескачане на гени за резистентност между бактерии и гостоприемникови коменсални бактерии или между различни бактериални видове. Затова **в глобален мащаб основна цел е да се разработят и тестват ефикасността и устойчивостта на алтернативите на антимикробните средства** за лечение на бактериални инфекции при хора и животни.

Поради този наболял проблем страните членки на Европейския съюз (ЕС) забраниха всички стимулатори на растежа, които са на основата на АМС през 2006 г. съгласно Регламент (ЕО) № 1831/2003 на Европейския Парламент и на Съвета от 22 септември 2003 година относно добавки за използване при храненето на животните.

Забраната за използване на медикаментозни фуражи обаче оказва и неблагоприятно въздействие върху животновъдните производства в ЕС, тъй като се наблюдава увеличаване на инфекциите при животните и намаляване на животинската продукция. Междувременно общото количество на употребени АМС с цел лечение на инфекции при животните се е увеличило, поради високата честота на възникнали заболявания. За разлика от златната си епоха, когато бяха открити и комерсиализирани много антибиотици, **откриването и разработването на нови антибиотици**

драстично намаляха в продължение на десетилетия *(Stanton, 2013)*. Недостигът на антимикробни препарати по статистика се е увеличил с 283% през 2006 г. 2010 г. само в САЩ (*Borchardt и Rolston, 2013*). От друга страна пък липсата на нови класове АМС потенциално „компенсира“ резистентността към съществуващите антибиотици и се дължи на високата цена и риск, свързани с разработването и приложението на такива продукти (*Cooper and Shlaes, 2011*).

За да се преодолее увеличеният процент на резистентност на патогенните микроорганизми, смъртност и заболеваемост от инфекции, причинени от тези патогенни микроорганизми са предложени **редица алтернативи / заместители на антибиотичното лечение** (*Seal et al., 2013*). Такива са: **антибактериални ваксини, имуномодулатори, бактериофаги и техните лизини, антимикробни пептиди (AMPs), про-, пре- и синбиотици, растителни екстракти, инхибитори на кворум сенсинг (междуклетъчна бактериална сигнализация - QS), биофилма и вирулентността, фуражни ензими и процедура, наречена трансплантация на полезен чревен микорбиом - FMT (*fecal microbiota transplantation*)** (*Millet and Maertens, 2011*). **Други видове алтернативи** на антибиотичното лечение включват **чревни микробиомни модулатори, иновативни лекарства, насочени към патогена или имунния отговор на животни и хора, и стратегии за хранене с цел профилактика на заболяванията**. Въз основа на резултатите от предклинични проучвания, включително регулаторни съображения, ефикасността на най-обещаващите интервенции предстои да бъде оценена чрез полеви и клинични изпитвания. Математическо моделиране е използвано за прогнозиране на ефектите от тези алтернативни медикаменти върху организмите и върху таргетните патогени и ефекта им върху намаляването на антимикробната употреба и преборване на антимикробната резистентност.

1. Трансплантация на фекален микробиом (*Fecal microbiota transplantation – FMT*):

Ролята на трансплантацията на фекална микробиота/микробиом за намаляване на чревната колонизация с антибиотично резистентни патогенни бактерии:

Фекална трансплантация на микробиота или FMT е термин, използван за описване на трансплантацията на фекална маса от здрав индивид в болен индивид като терапевтичен инструмент. Процесът на FMT се изразява в трансплантиране на всички микроорганизми, съдържащи се в гастроинтестиналната микробиота, включително вируси, бактерии, гъби, археи и протозои, заедно с малък процент колоноцити и чревни метаболити.

Историята на FMT по целия свят датира още от 4ти век в Китай, където тази методология се използва за лечение на гастроентерит и диария при хората. В САЩ, има публикувана ранна поредица от случаи, документиращи употребата на FMT чрез клизми като успешен инструмент за лечение и овладяване на четири случая на псевдомембранозен ентероколит, причинен от *Staphylococcus aureus*. През последните години тази техника навлиза като по-разпространена стратегия за лечение в болниците

и клиниките и като изключително успешна възможност за лечение на рецидиващи инфекции с *Clostridium difficile*, които не се повлияват от антимикробни средства (*Hota et al., 2018; Orenstein et al., 2013*). Въпреки че *C. difficile* инфекциите са най-често срещаното заболяване, което се лекува посредством FMT в развития свят, много други заболявания също са показали положително повлияване, например експерименталната хронична умора, идиопатичната тромбоцитопенична пурпура, инсулиновата чувствителност при пациенти с метаболитен синдром (*Borody et al., 2011, 2012; Vrieze et al., 2012*). За по-голямата част от заболяванията точният механизъм за ефикасност на FMT е неизвестен, но вероятно е резултат от повишено микробно разнообразие, увеличен брой полезни микробни популации и модулация на имунната система.

При животните най-често срещаната употреба на FMT се нарича трансфаунация и се използва при преживни животни за възстановяване на микробните колонии в червата на преживни животни, най-често при храносмилателни или метаболитни разстройства, често характеризиращи се с безапетитие или тънкочревен хипомотилитет (*DePeters и George, 2014; Mandal et al., 2017*). Историята на трансфаунацията при преживни животни датира от 17ти век в Италия, където трансфаунацията е описана за възстановяване на нормалното функциониране на храносмилателната система при преживни животни (*Borody etal., 2004*). Много екипи от учени описват използването на регургитирана смес за микробна трансплантация като инструмент, използван в продължение на векове в Швеция за лечение на нарушения в метаболизма и храносмилането при преживни животни, дори отбелязвайки полезните ефекти на фекалната маса.

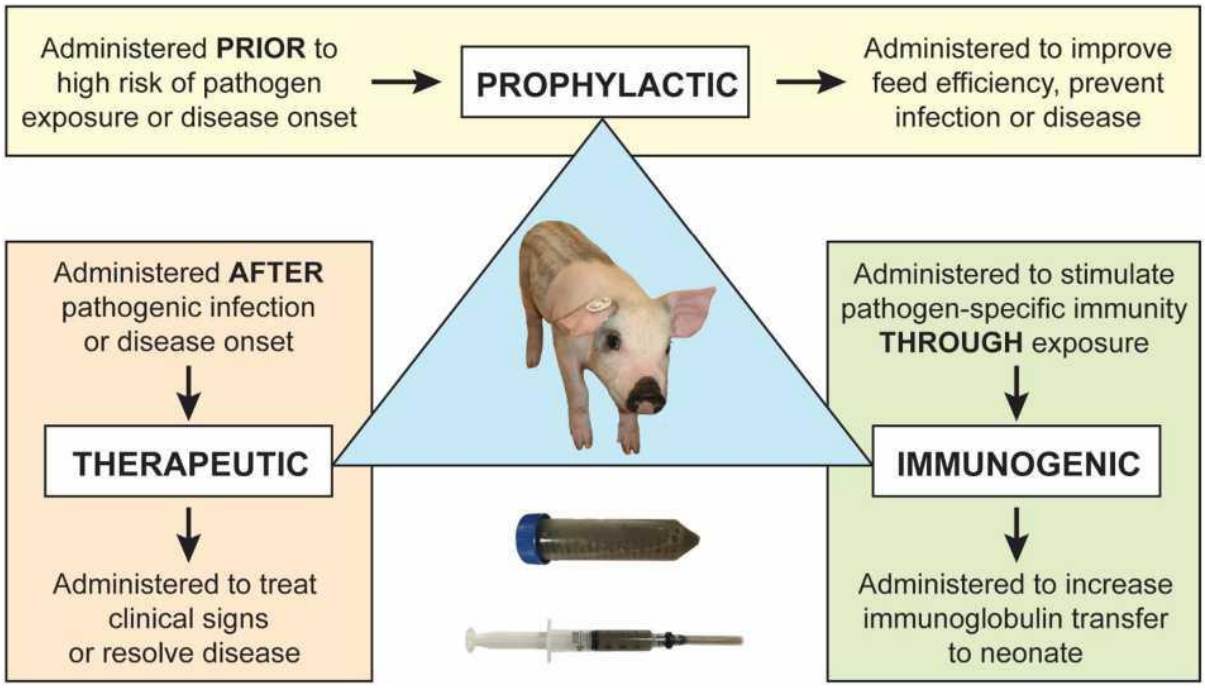
В последно време FMT се превърна в обект на интерес и за терапия и на други животински видове, както и за домашните любимци за терапевтични и профилактични цели.

FMT се използва за ефективно лечение на парвовирусни инфекции при кучета и колит при коне (*Mullen et al., 2018;Pereira et al., 2018*).

Въпреки че ефикасността на FMT при хора и животни не е добре дефинирана за повечето заболявания, един от най-често описваните начини на действие включва възстановяването на нормалната флора чрез повторно заселване на червата с непокътнати сложни съобщества микроорганизми. Трансфаунацията при преживни животни, например, се смята за полезна поради преколонизацията на полезните анаероби в чревния лумен, възстановявайки нормалната ферментационна функция (*DePetersu George, 2014*). Освен това, увеличаването на микробиомното разнообразие увеличава способността на гостоприемника да метаболизира сложни въглехидрати, подобрявайки храносмилателния капацитет (*Backhed et al., 2005; Sonnenburg and Backhed, 2016*). Смята се, че чрез преколонизацията на коменсалната чревна флора чрез FMT се повлиява конкурентното изключване на стомашночревните патогени, където полезни микроорганизми доминират над патогените по отношение на адхезия, закрепване и инфекция. Наскоро FMT е призната и като потенциална терапия за пациенти, инфектирани с мултирезистентни бактерии, като метицилин резистентен *Staphylococcus aureus* и ванкомицин-резистентен *Enterococcus faecalis* (*Cohen, Maharshak, 2017; Laffin et al., 2017*).

Много проучвания свидетелстват, че трансплатацииите на фекална микробиота също променят имунния отговор, тъй като здравите индивиди, при които липсват колонии патогенни микроорганизми имат по-слабо развити, по-малко активни имунни системи. Свързаната с червата лимфоидна тъкан (GALT) се счита за основен орган с имунна функция (*Chattha et al., 2015*) и ефектите от трансплантацията на чревната микробиота върху системния имунитет не трябва да се подценяват.

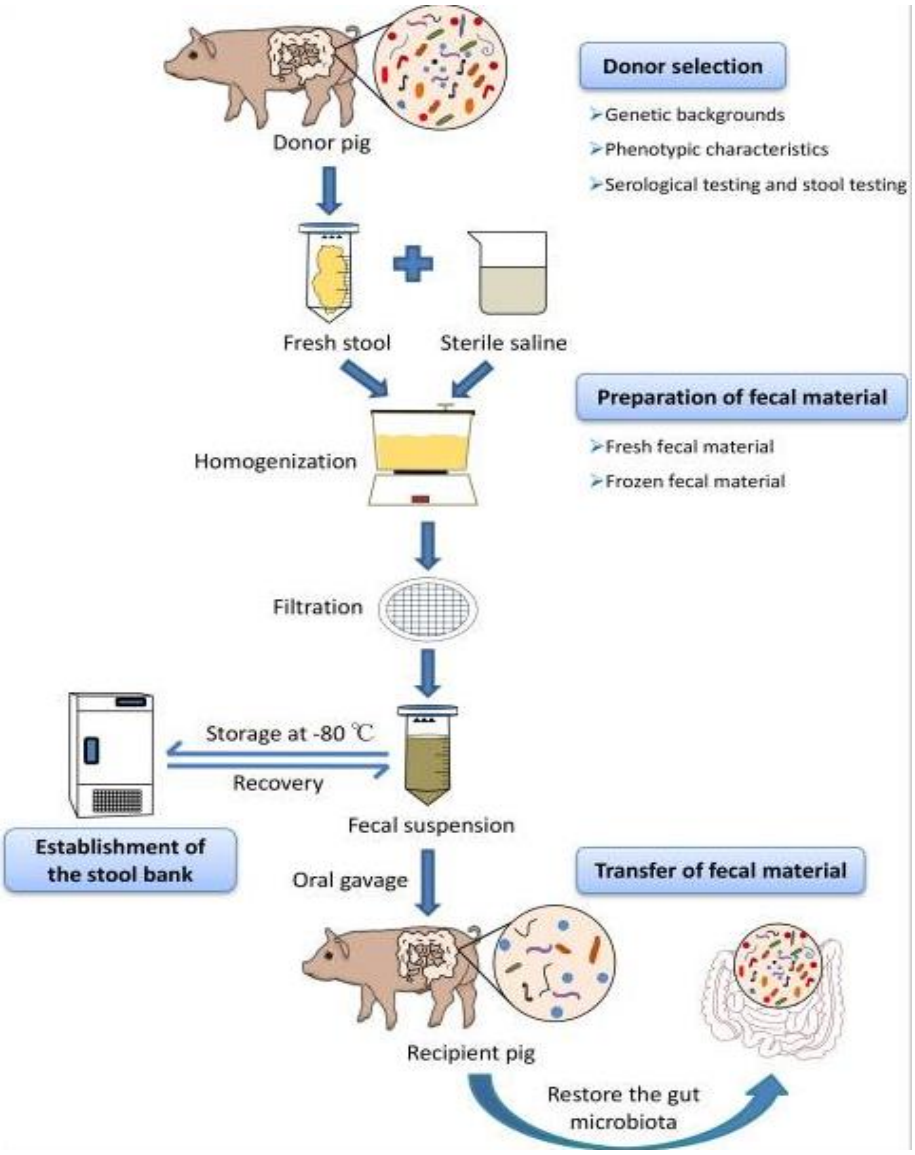
Рутинно използван при развъждането на свине, друга потенциална употреба за FMT включва умишленото и контролирано трансплантиране на фекална маса, съдържаща ентеровируси, като коронавируси или ротавируси, на възрастни индивиди в опит за стимулиране на имунитета на лигавицата/мукозата; В крайна сметка целта на FMT в този случай е последващото пасивно преминаване на имуноглобулини към новородени животни чрез коластра или мляко (*Armbrecht, 2010; Chattha et al.,2015; Schwartz et al., 2014*). Като цяло **механизмът на ефикасността на FMT е сложен, многофакторен и зависим от видове болести, биологични видове и възраст както на реципиента, така и на донора**.



Фиг.1: Приложения и предвидени резултати от трансплантацията на чревен микробиом при прасета включително терапевтична и имуногенна употреба

Преди години трансплантацията на фекална микробиота се е правила просто от какъвто и да е микробиологичен материал. Трябвало е буквално да се трансплантира в дебелото черво на реципиента – без много изследвания, без много наука зад това. Сега, изпражненията на донора трябва да бъдат изследвани за изключително много микроорганизми, донорът трябва да бъде изследван също за много заболявания на кръвта, и на стомашно-чревния тракт. И чак след като донорът отговаря на определени критерии (няма абсолютно никакви придружаващи заболявания, които са свързани с

храносмилателната система, с имунната система или с друга система в организма) означава, че е подходящ за донор на фекална микробиота. В допълнение, при хората има понятие „супер-донори“, т.е. не само отговарящи на критериите, без никакви придружаващи заболявания и напълно клинично здрави, а отговарящи на допълнителни критерии, които засягат специфично заболяване (например синдромът на раздразненото черво). Покриването на тези критерии е важно, тъй като независимо, че става въпрос за фекална маса, FMT е вид трансплантация. Пример за важността на точността на изпълнение на методиката, критериите за донор и реципиент и вида материал, който ще се трансплантира е смъртен случай след направена такава трансплантация в САЩ поради отхвърляне на трансплантa. Проблемите в много държави, включително и в България могат да дойдат от това, че **не е дефинирано от институциите какво е точно фекалната маса** – дали това е тъкан, дали е лекарство, дали е орган. Това би могло да доведе до **потенциални проблеми**, т.е. методът може да започне да се прави нерегламентирано. Други проблеми идват от това, че за някои заболявания са нужни специфични донори и подходящ материал.



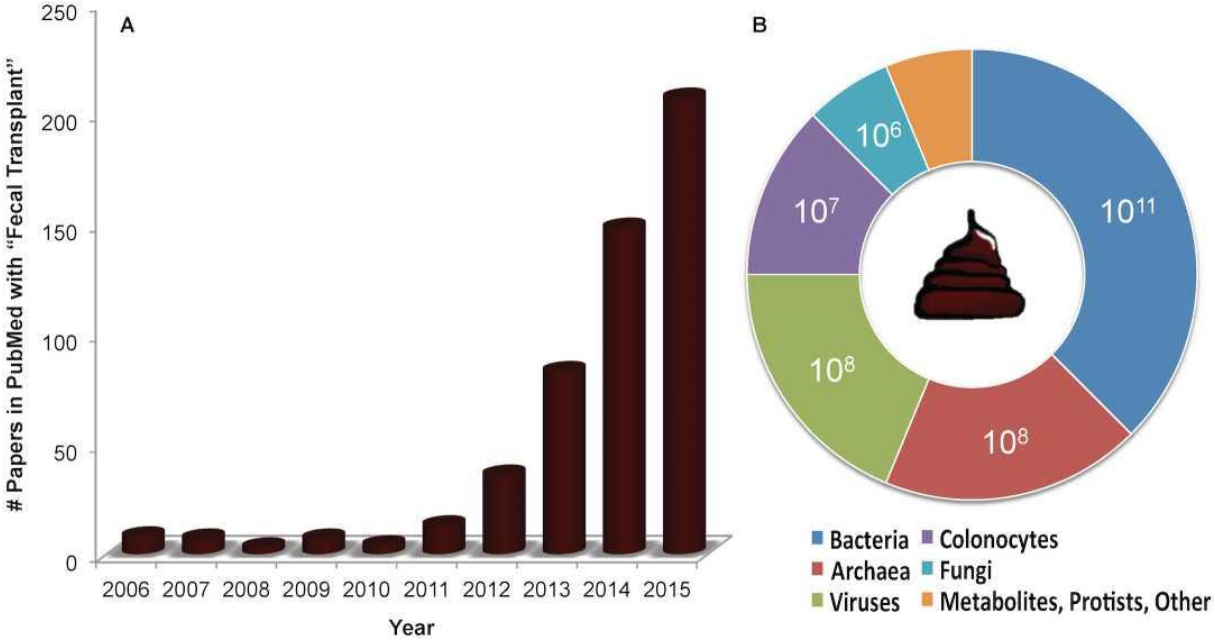
Фиг. 2: Принцип на методиката трансплантация на фекален микробиом при животни

Състав на трансплантa (фекалната микробиота/маса)

Съставът на фекалната маса не е интензивно изследван. Проучванията, които са изследвали състава на фекалната маса датират от 70-те и 80-те години на XX век и докладват различни резултати, може би поради вариации в диетата и здравето на консуматорите. Средно фекалната маса при възрастни се оценява на 75 % вода и 25 % твърда материя. По-голямата част от твърдата материя е органичен материал, чийто състав се състои от 25 % - 54 % микроорганизми (бактерии, като малка част са вируси), които може би са живи или в латентно състояние. Тъй като броят бактерии в чревния микробиом се определя чрез светлинна микроскопия и оцветяване по Грам, се предполага, че микроорганизмите са предимно бактерии, но липсват качествени нови доказателства. В състава на фекалната проба се намират в значителна концентрация, включително археи, гъби и микробни еукариоти. Един конкретен вид метаноархеи, *Methanobrevibacter smithii*, е открит при 95,7 % от пациентите, обхващащи кърмачета, подрастващи и възрастни и може да съставлява до 10 % от всички фекални анаероби. Жизнеспособните колоноцити също са изолирани често от фекални проби на новородени и възрастни индивиди. Не е докладван анализ на потенциалния им принос за успеха на трансплантациите на фекална маса.

Въпреки че трансплантациите могат да бъдат високоефективно лечение в определени случаи, остават **опасения относно хипотетичния едновременен трансфер и на патогенни микроорганизми**. Микробното замърсяване от околната среда също крие риск по време на събирането, съхранението и боравенето с донорски материал. За да се стандартизират лабораторните протоколи и да се подобри стабилността на фекалната маса, вариант е да се използва замразен донорен материал от стриктно тествани доброволци. Няколко проучвания сравняват ефикасността на замразените срещу пресните трансплантi (изпражнения) върху рецидивираща или рефрактерна CDI и съобщават минимална до никаква разлика. Обширен скрининг на донорите на изпражнения е от съществено значение за проследяване на дългосрочния успех на лечението и допълнителни метагеномни проучвания на прехвърления фекален материал. **Необходими са допълнителни изследвания за ефективността на тази методология като алтернатива на антибиотичното лечение.**

Състав на фекалната маса (трансплант):



Фиг. 3: Растежът на фекалните трансплантации, както е отразено в PubMed и очаквания състав на човешките изпражнения. Диаграмите показват бързото нарастване на публикациите за фекални трансплантации в Националната библиотека PubMed, особено между 2012 и 2015 г., и (Б) прогнозна максимална концентрация на микроорганизми и клетки на грам необработени човешки изпражнения. Оценките не отразяват с точност броят на жизнеспособните биологични единици. Концентрациите на метаболити, протисти и други не са показани.

Бактерии:

Добре установено е, че червата съдържат най-висока плътност на микрофлора в човешкото тяло, като съотношението бактерии - човешки клетки наскоро оценено на 1,3: 1. В изпражненията бактериите съставляват 25 % - 54 % от твърдото вещество и съответно между 6,3 % и 13,5 % от общата фекална маса. Средно, съблюдавайки 14 проучвания водят до средна бактериална концентрация на близо 1011 бактерии на грам течна маса. Въпреки това е показано ясно разграничение между жизнеспособните (49 %), отмиращите (19 %) и мъртвите (32 %) бактериални клетки, събрани от пресни фекални проби при анаеробни условия. Тези статистически данни показват, че само 3,0 % – 6 % от общата фекална материя може да се състои от жизнеспособни бактерии. Процентът може да бъде дори по-нисък, ако пробите се обработват в аеробни условия за продължителен период от време. Освен това, доста проучвания доказват, че трансплантациите на замразени фекални проби, които може да са с намалено ниво на жизнеспособните бактерии, могат да доведат до почти идентичен резултат, сравнени с трансплантации на пресни проби. Трябва да се отбележи обаче, че дори бактериалната ДНК или мъртви клетки могат да запазят някои имунни функции, например в проучвания с мишки, симптомите на колит са благоприятно повлияни и облекчени

чрез въвеждане на пробиотична ДНК и нежизнеспособни облъчени бактериални клетки.

Други проучвания показват, че взаимодействията между генотипа на гостоприемника и трансплантирания микробиом могат да повлияят потенциално на резултатите от трансплантацията. В доста проучвания се посочва, че фекалните трансплантации при хора от свързани донори показват малко по- голяма успеваемост при случаи на CDI (93 %) в сравнение с несвързаните донори (84 %). Това наблюдение е забележително в светлината на неотдавнашната констатация, че човешката генетична вариация значително корелира с вариациите в състава на бактериалната общност. Но при последващ метаанализ не се наблюдава значителна разлика в ефикасността между свързаните и несвързаните генетично донори.

За да бъде доказано, че бактериите пряко допринасят за овладяването на заболяванията, няколко изследователски групи са изследвали дали фекалния материал, допълнително обогатен с полезни бактерии могат да бъдат ефективни при лечение на CDI при мишки и хора. Употребата на подобна набогатена фекална маса потиска рецидивиращите CDI при 92 % от мишки, когато приблизително 1010 клетки на бактериални видове са трансплантирани в реципиентите. При друго проучване с мишки 108 колон образуващи единици от бактериален изолат *Lachnospiraceae* D4, водят до 10 пъти намаляване на броя на *C. difficile* колон образуващи единици на грам от цекумното съдържание. Трансплант с непатогенни *C. difficile* спори също е успешно използван за потискане на *C. difficile* рецидивираща инфекция в проучвания с хора. На 26- та седмица от лечението само 0% - 5% от пациентите от различни терапевтични групи са имали патогенни *C. difficile*, екстрахирани от изпражненията.

Вируси:

Вирусите са по-малко изследвани компоненти на чревния микробиом отколкото бактериите. От различни проучвания данните показват, че вирусното изобилие варира от 108 до 109 вируса на грам фекалии (мокро тегло), а средното съотношение вирус-/бактерии е 0,13. В доста метагеномни проучвания е показано, че по време на фекалните трансплантации се прехвърлят множество умерени фаги. Бактериофагите често помагат при контрола на патогените и поддържане на чревната хомеостаза. Доминирането на умерените фаги обаче е типично за здравите контролни изпражнения, тъй като пациентите, страдащи от заболявания на червата, могат да имат повишени количества вирулентни фаги. Един от най-разпространените бактериофаги в човешките черва е **crAssphage**. Бактериофагите и фаговата терапия активно се разглеждат като алтернатива на антибиотичното лечение. Терапията с фаги е насочена към конкретна бактерия или бактериален вид. Макар че не всички фагови лечения са ефективни, няколко *in vitro* и *in vivo* проучвания са дали резултат като лечение на CDI (*C. Difficile* инфекция), (108 единици на mL от специфичен фаг са трансплантирани в модел на човешкото дебело черво. В продължение на 35 дни лечението е довело до значително намаляване на вегетативните *C. Difficile* клетки, както и производството на

токсини. Фаговата терапия на CDI при мишки в експериментални условия също така показва значително забавяне на бактериалната колонизация и появата на симптомите.

Има няколко притеснения относно безопасността на фаговата терапия. За да се опровергаят опасенията, неотдавнашно клинично проучване при хора прилага орална ваксинация на 15 лица с висока доза фагови частици, насочени към инфекция с *Escherichia coli* и *Proteus,* като не е установен нежелан ефект. **Препаратите за фаговата терапия непрекъснато показват потенциал за обезвреждане и елиминиране на специфични патогенни бактерии, като избягват неблагоприятни ефекти, типични за антибиотиците (напр. резистентност, диария и др.).** Потенциален недостатък обаче е рискът от развитие на бактериална резистентност към фагите, въпреки че фагите потенциално могат да развият механизми за противодействие на резистентността. Освен това проучванията при хора, включващи фагова терапия, са сравнително малко до момента. Необходими са по- мащабни проучвания с по-голям брой пациенти и проучвания върху дозата на приложение на фаговата терапия, еволюционното развитие на фазата гостоприемник и бактериална резистентност, както и стабилността на фаг базираните лекарства.

Археи и гъби:

Археите са добре признати, но сравнително слабо проучени членове на човешкия чревен микробиом, като метаноархеите съставляват до 10 % от фекалните анаероби. Въз основа на концентрацията на метан в чревния лумен, минималното наличие на метаноархеи е 107—108 в грам сухо и мокро вещество. По- високи от нормалните концентрации на чревните археи са свързани с болестта на *Crohn* и множествена склероза.

Гъбите в червата са изолирани при 70 % от здравите възрастни индивиди. Те са в концентрации до 106 микроорганизми на грам изпражнения и изглежда съставляват само 0,03 % от всички микроорганизми в изпражненията. *Candida albicans* е най-често срещаният и изследван микроорганизъм, но тя се държи под контрол от конкурентни коменсални бактерии в здравите черва. Когато обаче бактериалната хомеостаза е нарушена, *C. albicans* увеличава броя си драстично и често се срещат при индивиди с възпалителни заболявания на червата.

Колоноцити:

Интересното е, че жизнеспособните епителни клетки на дебелото черво, или колоноцитите, могат да бъдат изолирани при концентрация до 107 на грам мокър фекален материал. Жизнеспособните колоноцити са ефективно изолирани от фекални проби от новородени индивиди (>80 % жизнеспособни) и биопсични проби от дебелото черво (>98 % жизнеспособни). Изолацията е възможна поради способността на колоноцитите да приемат кълбовидна форма и да оцелеят след като се ексфолират във фекалния поток. По този начин тяхната жизнеспособност и частична

функционалност се запазват в хода на някои трансплантационни лечения, особено при животни.

Действайки като физическа бариера между бактериите и вътрешните тъкани и органи на гостоприемника, колоноцитите позволяват толерантност към чревната микробиота. Когато се наблюдава голям брой нежизнеспособни колоноцити в чревния лумен, се наблюдава и нарушаване на медиаторната им функция и повишена чревна пропускливост. Това свидетелства, че основните патологични състояния на червата са свързани с промени в растежа и функциите на колоноцитния епител, подобни на промените, които често се наблюдават при проучванията на микробиома. В неотдавнашно проучване са трансплантирани здрави жизнеспособни стволови клетки от дебелото черво в мишки, които са с имунодефицитен синдром и с повърхностни увреждания на дебелото черво, като е установено, че клетките лесно се интегрират в реципиента и се наблюдава израснат нов слой епител.

В допълнение към колоноцитите, молекули като **имуноглобулин А (IgA)** могат да действат като първична защитна линия за чревния епител. IgA засилва чревната бариера и предпазва клетките на реципиента от патогени и ентеротоксини в червата. Например проучвания свидетелстват за това, че IgA инхибира значително *C. difficile* токсините и свързването с четинките на чревните мембрани. По същия начин, човешките IgA, добавени към фекалния трансплант, показват намаляване на патологията от *C. difficile* в сравнение с такива, при които липсват IgA. Трябва да се направят сериозни проучвания дали въвеждането на IgA директно в човешките гостоприемници ще бъде от полза.

Метаболити:

Добре известно е, че фибрите се метаболизират от чревните бактерии на интестиналния тракт, за да произвеждат късоверижни мастни киселини (SCFA), които имат видни противовъзпалителни и Т-клетъчни свойства в дебелото черво. Фибрите силно допринасят за фекалната маса и бедните на фибри диети при мишки може да доведат до необратима загуба на бактериално разнообразие в червата. Ако директното повторно въвеждане на липсващите фибри не възстановява бактериалното разнообразие, то трансплантациите на чревен микробиом при мишки с диета с високо съдържание на фибри действа положително. Освен това, диетите с ниско съдържание на фибри водят до „микробен глад“, при което коменсалните бактерии атакуват чревната лигавица. Хранителните добавки, богати на фибри, използвани в проучване с *C. difficile*-инфектирани мишки, обаче, успяват значително да модулират времето на появата на системна симптоматика. Приемът на фибри също е свързан с увеличеното микробно разнообразие и намалено затлъстяване при хората както и при животните.

При пациенти с колоректален карцином и улцерозен колит могат да бъдат по-ниски концентрациите на трансплантирана фекална маса, по-специално бутират продуциращите бактерии. Предварителните проучвания на клизми с бутират или SCFA препарати (ацетат, бутират и пропионат) показват известен ефект при пациенти с дистален улцерозен колит. След тези лечения 35 % – 67 % от пациентите показват

подобрение. Освен това пероралното приложение на натриев бутират при мишки с колит облекчава възпалението и увреждането на лигавиците, а освен това пропионатът води до подобряване на симптомите при множествена склероза, като се насърчава регулаторната Т-клетъчна диференциация. При никое от тези проучвания не са отбелязани нежелани реакции. Все пак в литературата се срещат и научни статии, цитиращи предупреждения относно употребата на такива метаболити. Докато бутират действа като източник на енергия, увеличава растежа на колоноцитите и намалява апоптозата на колоноцитите при здрави пациенти, излишъкът от бутират около клетките на човешкия чревен карцином води до повишаване на апоптозата.

И накрая, проучвания показват, че има близо 900 генни клъстери в човешката чревна бактериална флора, които произвеждат малки молекули с определена функция. Определянето на тези функции е изключително важно за разбирането на състава на фекалния трансплант и ефектите му върху процедурата на фекална трансплантация при хора и/или животни.

2. Употреба на FMT във ветеринарната медицина:

Употребата на FMT при животни може да бъде разделена на три потенциални приложения:

- терапевтична употреба,
- профилактична употреба и
- използване на FMT за стимулиране на имунитет към специфичен патоген.

Терапевтичната употреба на FMT се изразява в това, когато целта на приложението е лечение на клинични признаци или лечение на заболявания, които са текущи и хронични.

За разлика от терапевтичната употреба на FMT, профилактичната употреба на FMT включва използването на този вид трансплантация за осигуряване на полезни микробиомни характеристики в организма преди да се появи висок риск от експозиция на патогени или появата на заболяване, като превенция.

FMT се използва като имуностимулаторен инструмент, подобен на ваксинацията, където материалът за трансплантация стимулира специфичния клетъчен имунитет с цел увеличаване на трансфера на имуноглобулин.

Съществуват немалки рискове обаче при използването на FMT за неконтролирана експозиция на живи патогени при трансплантацията и са необходими допълнителни изследвания, за да се определят най-добрите практики за тази терапия и приложението и.

Уникални за ветеринарната медицина, последните две употреби не са изследвани значително при хората. Този научен обзор служи за представяне на тези потенциални приложения на FMT във ветеринарната област, подчертава конкретни примери за употребата на FMT при животни и предоставя важни съображения за бъдещата стандартизация на FMT за подобряване на здравето на животните.

Трансплантацията на фекална микробиота при животни е сравнително нова концепция за борба със заболяванията и респективно справяне с АМР, като повечето от примерите са клинични случаи или заболявания, при които FMT се използва терапевтично след появата на клинични признаци и заболяването е диагностицирано. Правени са обаче и проучвания върху профилактични и имуногенни приложения, предимно при свине и домашни птици. Често резултатите включват клиничния отговор на организма и описват патогенен или имуногенен механизъм на ефикасността на FMT.

Претегляйки минусите и плюсовете на подобна терапия (FMT) и при провеждане на достатъчно допълнителни проучвания по отношение определянето на ефикасността на FMT за намаляване болестите по животните, тази техника се явява **обещаващ алтернативен инструмент за превенция и лечение на болести при животни и като алтернативна терапия, заменяща антимикробните средства**, с цел превенция и намаляване на антимикробната резистентност,.

Употреба на FMT при компаньони, зоопаркови животни и лабораторни животни

Въпреки че публикациите, документиращи клиничната употреба на FMT при домашни любимци, са рядкост (*Chaitmanet al., 2016*), няколко последни проучвания показват положителни клинични резултати при кучета и котки, лекувани с FMT за различни стомашно-чревни заболявания. Например, *Pereira et al.(2018)* сравнява използването на стандартна терапия при кучешка парвовирусна (CPV) инфекция, състояща се основно от антимикробни средства, течности, антиеметици и антиациди, с комбинация от FMT и стандартна терапия. Кученцата са третирани с FMT чрез ректална клизма в рамките на 6-12 часа след започване на стандартната CPV терапия. FMT е добре поносимо лечение и значително подобрява времето на лечение, като 62,5 % от пациентите с проведена FMT са преборили диарията през първите 48 часа в сравнение със само 4,8 % от кучетата, получаващи стандартната терапия самостоятелно. Освен това FMT намалява средната продължителност на хоспитализацията с приблизително 2,3 дни (*Pereira et al.,2018*). В проучвания на *Weese et al.(2013),* биват документирани успешната FMT терапия при 2 пациенти чрез клинично подобрение на куче с еозинофилна възпалителна болест на червата и котка с хронично повръщане и диария. И двамата пациента имат хронични заболявания (16-24 месеца), които не са отшумели с традиционната терапия. В рамките на 24 часа от проведена FMT и двата случая са имали клинично подобряване и са поддържали здравен статус най-малко 3 месеца след прилагането на FMT *(Weese etal., 2013).* В друго проучване на *Murphy et al.(2014),* включващо 8 кучета с *Clostridium perfringens* свързани диарии, които не се повлияват от конвенционалните антимикробни средства, се докладва, че след проведена FMT, диарията незабавно отзвучава при всички реципиенти/кучета и липсва патоген след изследване посредством PCR при 75 % от пациентите (*Murphy et al., 2014*).

В проучване с домашни котки от Израел на *Furmanski, Mor, 2017* е документирано успешното използване на FMT при котки с хроничен улцерозен колит, характеризиращ се с кърваво водниста диария. Пациентите не реагират на лечение с множество антибиотични лекарства, диетични режими и пробиотици в продължение на около 1 година преди прилагането на FMT. Въпреки че бързото подобрение на изпражненията е отбелязано след първата трансплантация, клиничните признаци са рецидивирани и е била необходима повторна трансплантация, което в крайна сметка води до дългосрочно отстраняване на клиничните признаци (*Furmanski, Mor, 2017*).

При коне няма много документирана клинична FMT употреба в литературата, но все пак има малки проучвания и единични случаи, докладвани за животни с индуциран от антибиотици или неидентифициран колит, *Clostridium difficile* инфекции или хронична диария, при които FMT е предложен като потенциален терапевтичен вариант (*Fearyand Hassel, 2006; McGovern, 2013; Mullen et al., 2014, 2018*).

Hensley- McBainet al., 2016 описват в своите подробни проучвания ефектите на FMT след приложение на антимикробни средства на резус макаци хронично инфектирани с маймунски имунодефицитен вирус (SIV) и подложени на антиретровирусна терапия. Тъй като микробиомната дисбактериоза е често срещан резултат при пациенти с човешки имунодефицитен вирус, авторите проучват възможната употреба на FMT за подобряване на имунните параметри и възстановяване на нормалната флора при имунокомпрометирани индивиди. Като цяло, FMT е добре поносимо и изглежда оказва положително въздействие върху няколко имунни параметри, включително увеличение на Th17 и Th22 клетки, както и намаляване на CD4 + T клетките, макар и леко намаляване на теглото при макаците, подложени на трансплантация две седмици след терапията (*Hensley-McBainet al., 2016*). Във второто проучване с резус макаци, FMT е изследван като потенциален терапевтичен инструмент за лечение на хронична диария, тъй като авторите отбелязват, че диарията при нечовекоподобните примати е често явление. FMT се доставя като еднократна орогастрална инфузия и значително подобрява фекалната консистенция след лечението при трансплантираните пациенти.

Африканските тюркоазени риби, които са използвани като модел за стареене в биомедицински изследвания, поради естествената им продължителност на живота, са използвани от *Smith et al.(2017)* за проучване на употребата на FMT и дали микробиомната трансплантация може да доведе до стареене. Интересно е, че авторите съобщават, че FMT увеличава средната продължителност на живота на трансплантираната риба с 37-41 % в сравнение с не трансплантираните риби или риби, трансплантирани с микробиом от донори в същата възрастова група. Трансплантацията също така увеличава генната експресия, свързана с бактериалната защита, което предполага повишена готовност за реакция на патогени (*Smith et al., 2017*).

Употреба на FMT при продуктивни животни:

Използването на FMT в животновъдството се разглежда не само като средство за подобряване на определени заболявания, но и като потенциално средство за

подобряване на ефективността на фуражите и увеличаването на теглото при продуктивните животни. Трансфаунацията като лечение на лошо храносмилане или атония при преживни животни се използва в продължение на десетилетия. Важна разлика между FMT и трансфаунацията е мястото на събиране на гастроинтестинални микробиоми; въпреки това, функционално тези два метода се считат за сходни. При овце, използвани в биомедицински проучвания, *Jasmin et al.(2011)* докладват подобряване на ацидозата, атонията и безапетитието при овцете, подложени на FMT (*Jasmin et al., 2011*). В проучване на *Rager et al. (2004)*, трансфаунацията е изследвана като допълнителна терапия, прилагана при крави след хирургична корекция на дислокация на абомазума. Трансфаунацията спомага за предотвратяване на често наблюдаваната след операцията коморбидност, което се изразява в значително увеличение на приема на фураж и на добива на мляко, както и по-ниска степен на кетонурия в сравнение с постоперативните крави, които не са претърпели трансфаунация (*Rager et al., 2004*). Лумен трансфаунацията също е изследвана като потенциална терапия за свързаните с транспорт на животните стрес и заболявания, като изчерпване на мускулния гликоген и намален прием на фураж. Когато се прилага непосредствено 24-часа след транспортирането, лумен трансфаунацията спомага увеличаването приема на сено и телесно тегло на говедата в сравнение с говедата, непретърпяли трансплантация. В проучванията се посочва, че въпреки високата ефективност на тази трансплантация, не са демонстрирани благоприятни ефекти върху възстановяването на мускулния гликоген (*Leo-Penu et al., 2016*).

При свинете и домашните птици най-често са изследвани профилактични и имуногенни терапии посредством FMT. В няколко проучвания FMT е използвана като профилактичен инструмент за подобряване на реакцията на прасетата към коинфекция с два често срещани вирусни патогена при свине: вируса на репродуктивния и респираторен синдром на свинете (PRRSV) и цирковирус тип 2 (PCV2). FMT е прилаган на 3-седмични прасета при отбиване, когато микробиомът е нарушен поради промяна в диетата от мляко към твърди фуражи. Трансплантa е приеман от прасетата веднъж дневно в продължение на 7 дни преди да бъдат инфектирани с PRRSV и PCV2. Резултатите сочат, че FMT значително намалява броя на свинете, засегнати от инфекции, причинени от цирковирус тип 2, намалява заболеваемостта, смъртността, патологията и репликацията на вируса (*Niederwerder et al., 2018).* В друго експериментално проучване, FMT е оценен при млади прасенца като модулатор на имунитета и като инструмент за подобряване на реакцията към *Mycoplasma hyopneumoniae*. Трансплантацията осигурява повишаване на системния имунен отговор на прасетата, включително намаляване на клиничното респираторно заболяване и по-бързо производство на антитела (*Schachtschneider et al., 2013).*

В проучване на *Hu et al., 2017,* FMT е изследвана за ефектите си върху чревното здраве, имунитета и повишаването на теглото при новородени прасенца. FMT води до няколко благоприятни резултата, включително повишаване на теглото и намаляване на диарията през първите четири седмици от живота. Хистологията, както и анализът на протеиновата експресия показват подобрена чревна бариера при трансплантираните

прасета. Освен това са повишени няколко имунни параметри, включително TLR2 и TLR4, които са важни за разпознаването на патогените и вродения имунитет.

Един от най-ранните публикувани доклади за FMT при домашни птици датира от 1973 г., когато *Nurmi* и *Rantala* изследват ефектите от трансплантацията на микробиом от възрастни петли в бройлери върху инфекцията със *Salmonella infantis*. В сравнение с нетрансплаираните контролни пилета, FMT намалява броя на носителите на *Salmonella* и намалява колонизацията на *Salmonella.* Авторите предполагат, че нормалната флора при малките осигурява защитен механизъм срещу растежа и проникването на салмонела (*Nurmi-Rantala, 1973).*

В друго проучване с домашни птици FMT от високоефективни донори е прилаган през първите няколко дни от живота на пилетата с цел повишаване на ефективността на фуражите през следващите седмици. Интересното е, че FMT не е имало ефект върху остатъчния прием на фураж или задържане на хранителни вещества; въпреки това, при кокошките, FMT изглежда увеличава общия прием на фураж и общото покачване на теглото (*Siegerstetter et al., 2018*).

Има значителен интерес към оценката на потенциала на трансфаунацията в животновъдството като механизъм за подобряване на ефективността на фуражите (*Zhou et al., 2018).* Обосновката за този интерес се дължи на доказателства, че разликата в ефективността на фуражите между породите или генетичните линии продуктивни животни вероятно се дължи на микробиома на червата, където някои животни имат микробиом, способен "да извлича" енергия от храната при по-високи темпове. След трансплантацията се наблюдава повишено храносмилане на фураж при говеда, но не се повлиява метаболизирането на ечемика (*Ribeiro et al., 2017*).

Две проучвания при свине показват потенциалните отрицателни ефекти на FMT, когато се прилага много рано в неонатална възраст. В проучване на *McCormacket al. 2018 и Martin et al., 2015,* FMT при новородени прасенца веднага след раждането и в рамките на първата седмица от живота им, води до намаляване на телесно тегло, не наддаване на тегло, сепсис и бактериална транслокация и промяна в хистологията на чревния лумен и клетките. Тези проучвания подчертават **важният фактор възраст на реципиента, която вероятно играе основна роля в успеха на FMT** и намаляване на честотата на потенциалните отрицателни странични ефекти.

Въпреки че употребата на FMT за имуногенни цели е доста често срещана практика в свине производството, но много малко контролирана техника при експериментални или полеви проучвания, описващи нейната ефикасност и насоки. *Schwartz et al., 2014* използва FMT в своите пручвания за стимулиране на имунитета срещу вируса от семейство *Coronaviridae*, предизвикващ епидемична диария по свинете (PEDV - *Porcine epidemic diarrhea virus*) въз основа на опита на няколко кратки проучвания на други научни колективи. Трябва да се отбележи, че тази употреба на FMT, както и ползите на тази терапия са нови в сравнение с по-честите терапевтични и профилактични приложения. Основната цел на FMT, в този случай, е стимулиране на имунитета чрез излагане на вирусен патоген, присъстващ в трансплантa за FMT. Някои от най-ранните доклади, описващи ползите от прилагането на ентеровируси орално за

имуногенна стимулация при свине или за увеличаване на пасивния трансфер, са свързани с предпазването на прасенцата от трансмисируем гастроентеритен вирус (*Bohl et al.,1972; Saif et al.,1972*). Последните публикувани доклади за ползите от тази трансплантация са основно фокусирани върху PEDV. Например, в проучване на *Goede et al.(2015*), при прасенца, родени седем месеца след експозицията на стадото на вируса, са демонстрирани дългосрочни ползи от прилагането на FMT. Прасенцата, родени от свине, които са преболедували, имат значително по-малко диария, по-голяма преживяемост и по-малко откриваем вирус в тънките черва след PEDV инфекция в сравнение с контролни прасета без имунитет от прекарана инфекция. Друго проучване върху разпространението на PEDV и наличието на антитела срещу вируса при свине след прилагането на FMT е на *Clement et al., 2016*.

3. Плюсове и минуси на FMT и широкото и приложение:

Въпреки че много доклади и малки експериментални проучвания показват **най-вече благоприятно въздействие след FMT при много различни животински видове**, остават няколко въпроса и опасения по отношение на осъществимостта на широко разпространеното приложение на FMT при продуктивни животни и домашни - любимци. За по-голямата част от животните, при които FMT се използва, обикновено **липсват стандартизирани насоки за прилагане и подбор на донори** *Chaitmanet al., 2016; Niederwerwerder and Hesse, 2018*). Трансфаунацията при преживни животни и няколко публикации описващи най-добрите практики за осъществяване на тази процедура са: *DePeters - George, 2014; Mandal et al., 2017; Shanks 2012; Stockler, 2016*.

Допълнителни публикации предлагат насоки за FMT при други видове, включително свине - *Huet al., 2018*, кучета и котки - *Redfern et al., 2017* и коне - *Mullen et al., 2018*.

Едно важно препятствие пред рутинната употреба на тази трансплантация е как **да се гарантира безопасността на FMT материала/трансплант**а, включително липсата на патогени, болести или фенотипове, които могат да бъдат предадени на реципиента. При FMT, прилаган на продуктивни животни, трябва да липсват не само патогени, но и патогени, които биха могли да постъпят чрез човешка намеса и при извършване на самата трансплантация от оператор. Например при едрия рогат добитък е известно, че някои лумен протозои повишават патогенността и вирулентността на резистентен към антибиотици *Salmonella enterica* серотип *Typhimurium*, основен патоген за хората, пренасян в храните (*Rasmussen et al., 2005*). Трансплантацията на тези протозои чрез фекална трансплантация може не само да увеличи рисковете за реципиента/животното, но също така може да бъде противопоказана поради последващият риск за безопасността на храните.

За да се отговори на опасенията за безопасността на FMT, когато се прилага в хуманната медицина, са приложени няколко **характеристики на донора и стандартни скрининг инструменти**. Например донорите са често тествани за няколко инфекциозни заболявания, като чревни паразити, хепатит С вирус, човешки имунодефицитен вирус и *Helicobacter pylori*, както и разпитвани по отношение на

стомашно-чревни заболявания, като анамнеза за хронична запек, диария или колоректален рак. Освен това, потенциалните донори често се изключват, ако имат скорошна анамнеза за прием на антимикробни средства. Освен това микробиомът на донора може да се разглежда въз основа на определени характеристики, като бактериално богатство, което може да спомогне за идеалния подбор на донори за специфични заболявания (*Sokol, 2016*). Подобни донорски изисквания и стандартизирани скрининг инструменти за инфекциозни и неинфекциозни заболявания трябва да бъдат очертани за всеки животински вид, където FMT ще бъде приложен като терапевтичен, профилактичен или имуногенен инструмент. Изключително важно условие при продуктивните животни е безопасността на храните за потребителя и че тя трябва да се запази.

Второ предизвикателство включва поддържането на последователност в материала на FMT, както и определяне на стандартния обем, честотата и продължителността на лечението. Съгласуваността между донорния материал за FMT може да бъде проблемна, дори когато се събира от един и същ донор с течение на времето поради промени в диетата и микробната експозиция. В проучване на *Hamilton et al., 2012*, е описан стандартизиран метод за приготвяне на замразен FMT материал, който позволява FMT материала да се съхранява в глицерол при – 80 °C, колкото е необходимо преди приложението. Протоколите, които елиминират необходимостта от прясно дарен фекален материал преди всяка трансплантация, осигуряват постоянство и сигурност в лечението на един и същ пациент с течение на времето. Важно да се отбележи е, че замразеният FMT материал е показал сходна ефективност и успеваемост при лечението на повтарящи се *Clostridium difficile* инфекции в сравнение със свеж FMT материал (*Hamilton et al., 2012;Lee et al., 2016; Youngster et al., 2014*).

Що се отнася до **честотата и продължителността на терапията с FMT** при животни и хора варира значително, като терапевтичните схеми при хората често са съобразени с индивидуалния пациент.

Третото предизвикателство включва **обичайната стандартна практика на прилагане на антибиотици при хора или лабораторни мишки в проучвания за терапевтична ефикасност на FMT** (*Grehanet al., 2010; Lagier et al., 2017; Lundberget al., 2016; Staley et al., 2017*). Преди FMT, прилагането на антибиотици или антимикробни средства (*Staley et al.,2017*), увеличава вероятността от екзогенно микробно присаждане. Въпреки това, дори при човешки случаи на рецидивираща инфекция с *Clostridium difficile* с антибиотици, прилагани преди FMT, не е необходимо пълно присаждане на микробиома за овладяване на заболяването (*Staley et al., 2016*). По същия начин и при животни, профилактичното приложение на FMT при прасета без предварително лечение с антибиотици, не изисква пълно присаждане на донорския микробиом, но въпреки това показват значително подобрение на здравния статус.

4. Бъдещето на FMT като алтернатива на антибиотичното лечение и инструмент за здравето на животните

Във ветеринарната и хуманна медицина има значителни опасения относно антибиотичната резистентност през последното десетилетие, отчасти поради увеличаването на хората, заразени с устойчиви на антибиотици бактерии, но също така поради липсата на нови антимикробни средства. Антибиотичната резистентност е основен възпиращ фактор за FMT протоколите при животни, които изискват антимикробно третиране преди трансплантацията. Освен това **антимикробната резистентност при животните следва да се счита за важен критерии за подбор на донори с цел намаляване на трансфера на резистентни бактерии към реципиентите**.

Алтернативите на антимикробните вещества са много необходим инструмент за контрол на заболяванията във ветеринарната медицина, особено при производството на храни, където е налице спешна необходимост от повишаване на ефективността, като същевременно се елиминира използването на антимикробни средства като растежни стимулатори. Микробиомната терапия, като фекална трансплантация на микробиота, дава възможност за използване на полезни микроби за подобряване на имунитета, стомашно-чревното здраве и растежа. Хронични и/или инфекциозни стомашно-чревни заболявания често поразяват лабораторни животни, компаньони и зоопаркови животни. **FMT осигурява алтернативна на антибиотичната терапия, която може да се използва след неефективност на конвенционалното лечение, като допълнение към конвенционалната терапия или дори като самостоятелно лечение при тези пациенти**.

Вид животни	**Заболяване/ състояние**	**Употреба**	**Клинични/патологични резултати**	**Имунни/ патогени резултати**
Кучета	Куешки парвовирус, синдром на остра хеморагична диария	T	По-бързо овладяване на диарията, намалена продължителност на хоспитализацията в сравнение със стандартната терапия	ND
Кучета	Еозинофилно възпаление на червата (еозинофилен гастроентерит)	T	Бързо подобряване на консистенцията на фекалиите, дългосрочно (3 месеца) подобряване на състоянието	ND

Кучета	Идиопатично възпалително състояние на червата (IBD (*inflammatory bowel disease*))	T	Клинично подобрение, намалена кучешка хронична ентеропатия Индекс на клинична активност	ND
Кучета	рефрактерна диария от *Clostridium perfringens*	T	Бързо овладяване на диарията	Повечето кучета (6/8), подложени на трансплантация са тествани отрицателни за *C. perfringens* посредством PCR
Кучета	Диария след отбиване	P	Няма развитие на диария, няма клинична разлика от контролите	ND
Котки	Хронично повръщане и диария	T	Бързо подобряване на консистенцията на фекалиите и апетита, дългосрочно подобряване на повръщането и диарията (3 месеца)	ND
Котки	Улцерозен колит	T	Подобряване на фекалната текстура, миризма и цвят (анамнеза за кървава, мукоидна, с неприятна миризма диария), дългосрочно разрешаване на диарията (11 месеца)	ND
Коне	Остър колит	T	Подобрена консистенция на фекалиите, клиничен отговор	ND
Макаци (*Rhesus macaque*)	Маймунски имунодефицитен вирус (SIV)	T	Добре се понася, без промяна в поведението, незначителна загуба на тегло	Повишени периферни Th17 и Th22 клетки, намалено активиране на CD4 + T клетки в GI, намалени периферни

				моноцити
Rhesus macaque	Идиопатична хронична диария	T	Значително подобрение на консистенцията на фекалиите и клиничните резултати след FMT	ND
Мармозетки	Повтаряща се инфекция с Clostridium difficile	T	Пълно и незабавно овладяване на хроничната диария, без повторение (10 месеца)	Елиминира Clostridium difficile от GI, отрицателни тестове за антиген и токсин
African turquoise killfish	Стареене	P	Значително увеличение на средната продължителност на живота, поддържано активно поведение и висока активност с възрастта	Транскриптомът показа засилени защитни реакции към бактерии
Азиатски слон	Потенциална дисбактериоза след запушване на червата и илеума	T	Нормалната подвижност и функция се възстановяват след лечението с няколко терапии	ND
Свине	Некротизиращ ентероколит	P	Намалена диария, по-ниска честота на кръв в изпражненията, намалени некротизиращи ентероколитни лезии, подобрена подвижност на GI, повишена ензимна активност на GI, намалена смъртност	Повишена бактериална колонизация и сепсис
Свине	Коинфекция с вируса на епидемичния респираторен синдром при свинете (PRRSV) и свинския цирковирус тип 2 (PCV2)	P	Намалени клинични признаци на заболяване, свързано със свински цирковирус, намалена смъртност, подобрено наддаване на тегло, намалени макроскопични белодробни лезии	Намалена виремия на PRRSV и PCV2, повишени нива и продължително производство на антитела
Свине	*Mycoplasma*	P	Намалена честота на	По-силен отговор

	hyopneumoniae		кашлица, забавени позиви за кашлица, намалени макроскопични белодробни лезии	на свръхчувствителност от забавен тип срещу алергени, намалена вариация на TNF-α в бронхоалвеоларната течност, по-бърза сероконверсия
Свине	*Feed efficiency*	P	Намалено наддаване на тегло, намален серумен протеин и холестерол, намалена абсорбционна способност на червата, променена концентрация на летливи мастни киселини в червата	Регулирана експресия на подобен на Toll рецептор 2 (TLR2) в дванадесетопръстника
Свине	Чревна структура, имунитет, растеж	P	По-високо средно дневно наддаване на тегло, намалена честота на диария, намалена дълбочина на чревната крипта, увеличена експресия на протеини в междуклетъчните връзки, увеличен брой чревни клетки и експресия на муцин	Повишена експресия на β-дефензин 2 в илеума, увеличена концентрация на sIgA + клетки на дебелото черво, повишена експресия на TLR2 и TLR4 в дебелото черво
Свине	Декстран сулфат натрий (DSS) предизвикан остър колит (*Dextran sulphate sodium (DSS) induced acute colitis*)	P	FMT осигурява устойчивост/резистентност към колит, подложените на трансплантация прасета имат по-ниски клинични резултати, по-малко тежко кървене от дебелото черво, липсва възпаление и чревни язви	Няма повишаване на съотношението CD4 +/CD8+, IgA+ плазмени клетки или MAC387+ макрофаги в дебелото черво, няма увеличение на възпалителните маркери INF-γ, IL-1β, IL-6 и PGE2 в

				дебелото черво, няма повишена експресия на TLR4, TLR8, NOD1, MYD88 и NF-kB
Свине	Вирус на епиде мичната диария по свинете - PEDV	I	Намалена диария и свързана смъртност при прасенца	Значително намаляване на вируса, открит в червата
Свине	Вирус на епидемичната диария (PEDV) при свине	I	Повишената честота и продължителност на FMT водят до подобряване и подобряване на клиничните признаци 6 седмици след инфекцията	Повишената честота и продължителност на FMT доведоха до значително по-високи серумни неутрализиращи титри на антитела при свинете-майки и увеличено разпространение на неутрализиращите антитела в серума на прасенца
Пилета	*Salmonella infantis*	P	ND	Значително намаляване на разпространениет о на носителите на салмонела и нивото на колонизация на салмонела
Пилета	*Feed efficiency*	P	Няма ефект върху остатъчния прием на фураж или задържането на хранителни вещества, увеличения общ прием на фураж и наддаването на тегло при женските	ND

Овце	Ацидоза, атония, липса на апетит при овце (*Ruminal acidosis and atony, inappetence*)	T	Апетитът се нормализира, подобрение на клиничните симптоми	ND
Говеда	*Left-displaced abomasum (post-surgical)*	T	Повишен прием на фураж, по-голямо производство на мляко, по-малко кетонурия	ND
Говеда	Слабо наддааване, слаб растеж на опитни телета	T	По-гладка козина, подобрени темпове на растеж и общо състояние	ND
Говеда	Стрес при транспортиране	T	Повишен прием на храна, няма ефект върху концентрациите на гликоген в мускулите	ND
Говеда	Ефективност на храненето/ *Feed efficiency*	T	Повишен прием на фураж и смилаемост на азота, няма ефект върху смилаемостта на фибрите	ND

Таблица 1: Типове заболявания по животните, при които е прилагана или има научни проучвания на FMT

В крайна сметка, FMT може да служи като профилактичен инструмент, който да се използва по време на рискови за здравето на животните периоди и при потенциална заплаха от определен патогенен агент. Полезните микробиоми и трансплантацията на фекален микробиом в идеалния случай ще бъдат използвани за превенция на заболяванията по животните. Въпреки че FMT е в ранни етапи на проучване във **ветеринарната медицина**, проучванията и трудовете на много колективи до този момент доказват, че **трансплантацията на фекален микробиом е обещаващ инструмент, който след време би могъл да замени конвенционалното лечение с антимикробни средства** и др.

В **хуманната медицина FMT би могла да е потенциална стратегия за намаляване на ARO (устойчиви на антибиотици микроорганизми (ARO)) колонизацията и ефективно лечение за повтаряща се *Clostridioides difficile* инфекция**.

Практики в хуманната медицина, подобни на FMT, датират още от четвърти век, а техниката FMT се съобщава в съвременната медицинска литература за лечение на псевдомембранозен колит през 1958 г. Тъй като през 2013 г. бе публикувано забележително рандомизирано контролирано изпитване с FMT за лечение на персистираща *Clostridioides difficile* инфекция (RCDI), редица клинични проучвания

показват процент на успеваемост на лечението от приблизително 90 %. FMT се е превърнала във важно експериментално лечение за RCDI и е включена в основните насоки на лечение на обществото, включително тези на Дружеството за инфекциозни болести на Америка и редица европейски страни. С увеличаването на употребата на FMT за RCDI, загубата на колонизация ARO все по-често се признава като постигнат положителен резултат при тези пациенти и е описана във все по-голям брой доклади и случаи.

Докладите по клинични случаи и изпитвания показват също ефикасността на FMT за деколонизация на ARO като първичен резултат.

Bilinski et al съобщава за резултатите от проспективно проучване на FMT за деколонизация на ARO при 20 пациенти с левкемия, множествен миелом и тромбоцитопенична пурпура. Оценките за ефикасност се основават на проследяване на 1 седмица, 1 месец и 6 месеца след FMT. Крайната точка на деколонизация е постигната при 15 от 25 FMT терапии (60 %) на 1ви месец и 13 от 14 (93 %) на 6 месеца, като *Escherichia coli* е деколонизирана в по-голяма степен от *K. pneumoniae*. Анализ на подгрупата показва, че пациентите, лекувани с FMT и нетретирани с антибиотици, по- вероятно да достигнат първичен резултат на липса на ARO колонизация на 1вия месец, отколкото на пациентите, приемали антибиотици.

Davido et al съобщава за резултати от френско пилотно клинично проучване на FMT за деколонизация с CRE и/или VRE. В тези проучвания не са съобщени нежелани реакции от терапията.

Singh et al е завършил проучване на FMT за деколонизация на ESBL при 15 пациенти; като се включват пациенти, които са преминали втори FMT за персистиращи ESBL- инфекции, като резултатите сочат обща степен на деколонизация от 40 %.

Проучванията показват също потенциална полза от прекъсването на цикъла на рецидивиращи инфекции на пикочните пътища (RUTIs) след FMT за RCDI (*C. Difficile персистираща инфекция*).

Установено е, че антимикробната чувствителност на *E. coli* към цефалоспорини, флуорохинолони и триметоприм-сулфаметоксазол, се подобряват след проведени FMT терапии.

В обобщение, тези всички проучвания показват потенциална ефикасност на FMT за деколонизация на ARO микроорганизмите. Те също така предлагат потенциални разлики в честотата на деколонизация по тип резистентен патогенен микроорганизъм, които биха могли да бъдат свързани със специфични за патогена колонизационни фактори.

Подходите за FMT за ARO деколонизация все още са в началото на разработката и съответно все още съществуват **важни ограничения в безопасността и ефикасността на използването на FMT в хуманната медицина**. В повечето публикувани проучвания **липсват контролни групи и дългосрочни периоди на проследяване след трансплантацията на пациентите**. Тези ограничения пречат на обобщаемостта на резултатите за ефективността на това лечение. Остават основни въпроси относно това дали констатациите за деколонизацията и намалената честота на рецидивиращите инфекции след FMT са пряко свързани с лечението с тази методика,

или и с други селективни намеси като спиране на антибиотиците или спонтанна деколонизация.

Редица доклади и серии от случаи описват **нови симптоми след прилагането на FMT**, като тези съобщения пораждат редица **опасения относно възможните дългосрочни метаболитни, възпалителни и неопластични рискове, свързани с FMT**. **Необходими са дългосрочни бъдещи мащабни проучвания** за по-нататъшна оценка на тези потенциални рискове.

Разработват се **нови аналитични инструменти и бази данни, които позволяват анализи на генно прогнозирания функционален капацитет на микробните общества с метагеномен секвентен анализ**.

Изготвил:
Красимира Захариева
Главен експерт в дирекция ОРХВ към ЦОРХВ
Използвана литература:

- Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? - GuyueCheng, HaihongHao, ShuyuXie, XuWang, MenghongDai, LingliHuang and Zonghui Yuan
- The Role of Fecal Microbiota Transplantation in Reducing Intestinal Colonization With Antibiotic-Resistant Organisms: The Current Landscape and Future Directions - Michael H. Woodworth, Mary K. Hayden, Vincent B. Young, and Jennie H. Kwon
- Development of SYN-004, an oral beta-lactamase treatment to protect the gut microbiome from antibiotic-mediated damage and prevent Clostridium difficile infection - Michael Kaleko, J. Andrew Bristol, Steven Hubert, Todd Parsley, Giovanni Widmer, Saul Tzipori, Poorani Subramanian, Nur Hasan, Perrti Koski, John Kokai-Kun, Joseph Sliman, Annie Jones, Sheila Connelly
- Antimicrobial stewardship-a strategic task in institutional and national healthcare - Emma Keuleyan
- Fecal microbiota transplantation as a tool to treat and reduce susceptibility to disease in animals - Megan C. Niederwerder
- The European ban on antibiotic growth promoters in animal feed: From challenges to opportunities - Sam Millet Luc Maertens
- Fecal Transplants: What Is Being Transferred? - Diana P. Bojanova, Seth R. Bordenstein
- Development of an alternative animal model to investigate host-microbe interactions - Anna M. Seekatz
- Oral faecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile-associated diarrhoea in a dog: a case report - Koji Sugita , Nanako Yanuma , Hikaru Ohno , Kaho Takahashi , Koji Kawano , Hidetoshi Morita and Keitaro Ohmori
- Fecal microbiota transplant at weaning improves growth performance and alters fecal microbiome in pigs. Tsungcheng Tsai, Charles V. Maxwell, Jiangchao Zhao
- Commentary on key aspects of fecal microbiota transplantation in small animal practice - Jennifer Chaitman,' Albert E Jergens, Frederic Gaschen, Jose Garcia-Mazcorro, Stanley Marks, Alicia G Marroquin- Cardona, Keith Richter, Giacomo Rossi, Jan Suchodolski, Scott Weese
- Washed microbiota transplantation vs. manual fecal microbiota transplantation: clinical findings, animal studies and in vitro screening - Ting Zhang, Gaochen Lu, Zhe Zhao, Yafei Liu, Quan Shen, Pan Li, Yaoyao Chen, Haoran Yin, Huiquan Wang, Cicilia Marcella, Bota Cui, Lei Cheng, Guozhong Ji, Faming Zhang
- СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА БИОФИЛМИ ОТ ESCHERICHIA COLI - АВТОРЕФЕРАТ - Анна Красимирова Вачева
- Антимикробната резистентност при бактерийни изолати от продуктивни животни и възможности за нейния контрол – експертно становище на доц. Д-р Валентина Урумова
- https://medicalnews.bg/2019/04/20/%D0%B4-%D1%80-%D0%B4%D0%B6%D0%B0%D0%BD%D0%BB%D1%83%D0%BA%D0%B0-

%D1%8F%D0%BD%D0%B8%D1%80%D0%BE-%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BF%D0%BB%D0%B0%D0%BD%D1%82%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F%D1%82%D0%B0-%D0%BD/
- https://www.puls.bg/aktsenti-c-16/transplantatsiia-na-chrevna-mikroflora-bori-opasna-bakteriia-n-8621
- Veterinary Drug Usage and Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin - Frank M. Aarestrup
- A call for antibiotic alternatives research - Thaddeus B. Stanton, 2013
- Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health - Bonnie M. Marshall, Stuart B. Levy
- Antibiotic shortages: effective alternatives in the face of a growing problem - Roy A Borchardt, Kenneth V I Rolston
- Fix the antibiotics pipeline - Matthew A. Cooper & David Shlaes
- Alternatives to antibiotics: a symposium on the challenges and solutions for animal production - Bruce S Seal, Hyun S Lillehoj, David M Donovan, Cyril G Gay
- The European ban on antibiotic growth promoters in animal feed: From challenges to opportunities - Sam Millet, **Luc Maertens**
- Regional variability in fecal microbiota transplantation practices: a survey of the Southern Ontario Fecal Microbiota Transplantation Movement - • Susy S Hota, Salman Surangiwala, Aimee S Paterson, Bryan Coburn, Susan M Poutanen, Southern Ontario Fecal Microbiota Transplantation (SOFT) Movement
- Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions - Thomas J Borody, Eloise F Warren, Sharyn M Leis, Rosa Surace, Ori Ashman, Steven Siarakas
- Rumen transfaunation - E J DePeters, L W George
- Restoring the gut microbiome for the treatment of inflammatory bowel diseases - Allegretti J.R., Hamilton M.J.. World J.
- Manure Feedback Helps Control Rotavirus in Young Pigs National Hog Farmer - Armbrecht P. 2010
- Host-bacterial mutualism in the human intestine. Science (New York, N.Y.) 2005;307:1915–1920 - Backhed F., Ley R.E., Sonnenburg J.L., Peterson D.A., Gordon J.I.
- Antibody responses in serum, colostrum, and milk of swine after infection or vaccination with transmissible gastroenteritis virus - Bohl E.H., Gupta R.K., Olquin M.V., Saif L.J.
- Reversal of idiopathic Thrombocytopenic Purpura [ITP] with fecal microbiota transplantation [FMT]- Borody T., Campbell J., Torres M., Nowak A., Leis S.
- Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions.- Borody T.J., Warren E.F., Leis S.M., Surace R., Ashman O., Siarakas S. J.
- Fecal microbiota transplantation (FMT) in 16 dogs with idiopatic IBD - Bottero E., Benvenuti E., Ruggiero P.
- Evaluation of fecal microbiota transfer as treatment for postweaning diarrhea in research-colony puppies - Burton E.N., O'Connor E., Ericsson A.C., Franklin C.L.
- Choi H.H., Cho Y.S. Fecal microbiota transplantation: current applications, effectiveness, and future perspectives.
- Novel indications for fecal microbial transplantation: update and review of the literature-Cohen N.A., Maharshak N.
- Probiotic strains and their combination inhibit in vitro adhesion of pathogens to pig intestinal mucosa - Collado M.C., Grzeskowiak L., Salminen S.
- Rumen transfaunation - DePeters E.J., George L.W.
- Eiseman B., Silen W., Bascom G.S., Kauvar A.J. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis.
- Ekmekciu I., von Klitzing E., Fiebiger U., Escher U., Neumann C., Bacher P., Scheffold A., Kuhl A.A., Bereswill S., Heimesaat M.M. Immune responses to broad-spectrum antibiotic treatment and fecal microbiota transplantation in mice.
- Feary D.J., Hassel D.M. Enteritis and colitis in horses.
- Efficacy of oral fecal bacteriotherapy in rhesus macaques (Macaca mulatta) with chronic diarrhea - Ferrecchia C.E., Hobbs T.R.
- Fecal microbiota transplant in severe and severe-complicated Clostridium difficile: a promising treatment approach - Fischer M., Sipe B., Cheng Y.W., Phelps E., Rogers N., Sagi S., Bohm M., Xu H., Kassam Z.
- First case report of fecal microbiota transplantation in a cat in Israel - Furmanski S., Mor T.

- Durable alteration of the colonic microbiota by the administration of donor fecal flora - Grehan M.J., Borody T.J., Leis S.M., Campbell J., Mitchell H., Wettstein A.
- Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent Clostridium difficile infection - Hamilton M.J., Weingarden A.R., Sadowsky M.J., Khoruts A.
- Effects of fecal microbial transplantation on microbiome and immunity in simian immunodeficiency virus-infected macaques - Hensley-McBain T., Zevin A.S., Manuzak J., Smith E., Gile J., Miller C., Agricola B., Katze M., Reeves R.K., Kraft C.S., Langevin S., Klatt N.R..
- Broad scope method for creating humanized animal models for animal health and disease research through antibiotic treatment and human fecal transfer - Hintze K.J., Cox J.E., Rompato G., Benninghoff A.D., Ward R.E., Broadbent J., Lefevre M.
- Standardized preparation for fecal microbiota transplantation in pigs.- Hu J., Chen L., Tang Y., Xie C., Xu B., Shi M., Zheng W., Zhou S., Wang X., Liu L., Yan Y., Yang T., Niu Y., Hou Q., Xu X., Yan X.
- Kelly J.R., Borre Y., O' Brien C., Patterson E., El Aidy S., Deane J., Kennedy P.J., Beers S., Scott K., Moloney G., Hoban A.E., Scott L., Fitzgerald P., Ross P., Stanton C., Clarke G., Cryan J.F., Dinan T.G. Transferring the blues: depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat.
- Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. - Khoruts A., Sadowsky M.J.
- Laffin M., Millan B., Madsen K.L. Fecal microbial transplantation as a therapeutic option in patients colonized with antibiotic resistant organisms.
- Lee C.H., Steiner T., Petrof E.O., Smieja M., Roscoe D., Nematallah A., Weese J.S., Collins S., Moayyedi P., Crowther M., Ropeleski M.J., Jayaratne P., Higgins D., Li Y., Rau N.V., Kim P.T. Frozen vs fresh fecal microbiota transplantation and clinical resolution of diarrhea in patients with recurrent clostridium difficile infection: a randomized clinical trial.
- Leo-Penu C.L.O., Fitzpatrick L.A., Zerby H.N., Parker A.J. Treating Bos indicus bulls with rumen transfaunation after 24 hours of transportation does not replete muscle glycogen.
- Liu S.X., Li Y.H., Dai W.K., Li X.S., Qiu C.Z., Ruan M.L., Zou B., Dong C., Liu Y.H., He J.Y., Huang Z.H., Shu S.N. Fecal microbiota transplantation induces remission of infantile allergic colitis through gut microbiota re-establishment.
- Lundberg R., Toft M.F., August B., Hansen A.K., Hansen C.H. Antibiotic-treated versus germ-free rodents for microbiota transplantation studies.
- Mandal R.S.K., Joshi V., Balamurugan B., Gautam D., Chethan G.E., Lekshman A. Rumen transfaunation an effective method for treating simple indigestion in ruminants.
- Fecal microbiota transplantation decreases necrotizing enterocolitis but is associated with increased neonatal mortality in preterm pigs - Martin L., Cilieborg M.S., Birck M.M., Thymann T., Sangild P.T.
- McCormack U.M., Curiao T., Wilkinson T., Metzler-Zebeli B.U., Reyer H., Ryan T., Calderon-Diaz J.A., Crispie F., Cotter P.D., Creevey C.J., Gardiner G.E., Lawlor P.G. Fecal microbiota transplantation in gestating sows and neonatal offspring alters lifetime intestinal microbiota and growth in offspring.
- McGovern K. Approach to the adult horse with chronic diarrhoea.
- Mullen K.R., Yasuda H., R G., Divers K., Bicalho T.J., C R. 2014. Microbiota Transplantation for Equine Colitis: Revisiting an Old Treatment With New Technology Colic Symposium.
- Niederwerder M.C., Hesse R.A. Swine enteric coronavirus disease: a review of 4 years with porcine epidemic diarrhoea virus and porcine deltacoronavirus in the United States and Canada.
- Nurmi E., Rantala M. New aspects of Salmonella infection in broiler production.
- Orenstein R., Griesbach C.L., DiBaise J.K. Moving fecal microbiota transplantation into the mainstream.
- Donor recruitment for fecal microbiota transplantation - Paramsothy S., Borody T.J., Lin E., Finlayson S., Walsh A.J., Samuel D., van den Bogaerde J., Leong R.W., Connor S., Ng W., Mitchell H.M., Kaakoush N., Kamm M.A.
- Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection - Pereira G.Q., Gomes L.A., Santos I.S., Alfieri A.F., Weese J.S., Costa M.
- Evaluation of rumen transfaunation after surgical correction of left-sided displacement of the abomasum in cows.- Rager K.D., George L.W., House J.K., DePeters E.J.
- Rasmussen M.A., Carlson S.A., Franklin S.K., McCuddin Z.P., Wu M.T., Sharma V.K. Exposure to rumen protozoa leads to enhancement of pathogenicity of and invasion by multiple-antibiotic-resistant Salmonella enterica bearing SGI1.
- Redfern A., Suchodolski J., Jergens A. Role of the gastrointestinal microbiota in small animal health and disease.

- The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease- Round J.L., Mazmanian S.
- Schachtschneider K.M., Yeoman C.J., Isaacson R.E., White B.A., Schook L.B., Pieters M. Modulation of systemic immune responses through commensal gastrointestinal microbiota.
- Transfaunation - a practical technique for the bovine practitioner - Shanks M.
- Siegerstetter S.C., Petri R.M., Magowan E., Lawlor P.G., Zebeli Q., O'Connell N.E., Metzler-Zebeli B.U. Fecal microbiota transplant from highly feed-efficient donors shows little effect on age-related changes in feed-efficiency-associated fecal microbiota from chickens.
- Sokol H. Toward rational donor selection in faecal microbiota transplantation for IBD.
- Sonnenburg J.L., Backhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism.
- Staley C., Kelly C.R., Brandt L.J., Khoruts A., Sadowsky M.J. Complete microbiota engraftment is not essential for recovery from recurrent Clostridium difficile infection following fecal microbiota transplantation.
- Stockler R. Rumen transfaunation.
- Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R., Gordon J.I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest.
- Vrieze A., Van Nood E., Holleman F., Salojarvi J., Kootte R.S., Bartelsman J.F., Dallinga-Thie G.M., Ackermans M.T., Serlie M.J., Oozeer R., Derrien M., Druesne A., Van Hylckama Vlieg J.E., Bloks V.W., Groen A.K., Heilig H.G., Zoetendal E.G., Stroes E.S., de Vos W.M., Hoekstra J.B., Nieuwdorp M. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome.
- Xiao Y., Yan H., Diao H., Yu B., He J., Yu J., Zheng P., Mao X., Luo Y., Chen D. Early gut microbiota intervention suppresses DSS-induced inflammatory responses by deactivating TLR/NLR signalling in pigs.
- Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing Clostridium difficile infection. - Youngster I., Russell G.H., Pindar C., Ziv-Baran T., Sauk J., Hohmann E.
- Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? - Zhang F., Luo W., Shi Y., Fan Z., Ji G.
- Assessment of microbiome changes after rumen transfaunation: implications on improving feed efficiency in beef cattle - Zhou M., Peng Y.J., Chen Y., Klinger C.M., Oba M., Liu J.X., Guan L.