Состав кишечного микробиома как предиктор инфекций кровотока, вызванных грамотрицательными бактериями, у пациентов при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Стома И.О.

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», 220116, г. Минск, Республика Беларусь

До настоящего времени представления о значительной части инфекций у пациентов с сопутствующими гематологическими заболеваниями были основаны на экзогенном инфицировании. В данном обширном клиническом исследовании представлены результаты изучения показателей микробиома кишечника как фактора развития инфекций кровотока у иммунокомпрометированных пациентов.

Цель исследования – определить характеристики кишечного микробиома, ассоциируемые с развитием инфекций кровотока, на клинической модели пациентов с иммуносупрессией.

Материал и методы. В исследование проспективно были включены 765 взрослых пациентов, перенесших 785 процедур аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с 2012 по 2018 г. ПЦР-амплификация V4–V5 региона гена *16S* рРНК выполнена с помощью модифицированных универсальных бактериальных праймеров. На этапе секвенирования было проанализировано 5988 образцов стула пациентов. В ходе анализа полученных материалов учтено изменение градиента микробиома кишечника, а в качестве точки отсчета принято развитие инфекции кровотока после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Для обработки и анализа объемного массива данных подготовлен и валидирован программный код на языке R, а также применены методы линейного дискриминантного анализа размера эффекта (LEfSe), время-зависимая модель регрессионного анализа.

Результаты и обсуждение. Доминирование типа *Proteobacteria* в спектре кишечного микробиома >30% было оценено как независимый фактор развития грамотрицательных инфекций кровотока с наибольшим эффектом доминирования *E. coli*, *Klebsiella* spp. и сохраняющимся отрицательным клиническим эффектом доминирования на различных таксономических уровнях (класс *Gamma proteobacteria* и семейство *Enterobacteriaceae*).

Заключение. Увеличение относительного количества протеобактерий в кишечнике предшествует и является звеном патогенеза развития грамотрицательных инфекций кровотока у пациентов с иммуносупрессией, при этом эффект носит видоспецифический характер и сохраняется на всех таксономических уровнях. Впервые полученные результаты меняют представление о патогенезе грамотрицательных инфекций кровотока и позволяют разработать на основе микробиома человека практические методы профилактики и лечения инфекционных осложнений в гематологии, онкологии, трансплантологии.

Ключевые слова:

инфекции кровотока, сепсис, микробиом, микробиота, трансплантация, инфекции в гематологии, фебрильная нейтропения

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Стома И.О. Состав кишечного микробиома как предиктор инфекций кровотока, вызванных грамотрицательными бактериями, у пациентов при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9, № 1. С. 109–115. doi: 10.33029/2305-3496-2020-9-1-109-115

Статья поступила в редакцию 15.05.2019. Принята в печать 13.01.2020.

The composition of the intestinal microbiome as a predictor of gram-negative bloodstream infections in patients receiving hematopoietic stem cell transplantation

Stoma I.O.

Belarusian State Medical University, 220116, Minsk, Republic of Belarus

Currently understanding of pathogenesis of infections in immunosuppressed patients with hematological diseases was based on exogenous infections. In this clinical research paper we show the microbiome-associated factors leading to bloodstream infections in immunosuppressed patients.

The aim of this large study was to evaluate the characteristics of gut microbiome leading to bloodstream infections in immunosuppressed patients.

Material and methods. 765 recipients of allogeneic hematopoietic stem cells were included in the study during period of 2012–2018. PCR-amplification of V4–V5 region of 16S rRNA was performed using modified universal bacterial primers, using 5988 stool samples collected. Primary outcome was estimated as an episode of bloodstream infection. Statistical analysis was performed using R programming language with methods of linear discriminant analysis of effect size, time-dependent regression analysis.

Results and discussion. Proteobacteria phylum gut domination >30% is an independent predictor of subsequent gram-negative bloodstream infections, with most of effect based on *E. coli*, *Klebsiella* spp., and this effect observed on various taxonomic levels.

Conclusion. The increase in relative abundance of *Proteobacteria* in gut leading to bloodstream infections has changed the understanding of pathogenesis of infections in immunosuppressed hosts, what may be used for future preventive and therapeutic measures.

Keywords:

bloodstream infections, sepsis, microbiome, microbiota, transplantation, infections in hematology, febrile neutropenia

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. The author declare no conflict of interests.

For citation: Stoma I.O. The composition of the intestinal microbiome as a predictor of gram-negative bloodstream infections in patients receiving hematopoietic stem cell transplantation. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2020; 9 (1): 109–115. doi: 10.33029/2305-3496-2020-9-1-109-115 (in Russian)

Received 15.05.2019. Accepted 13.01.2020.

Несмотря на внедрение системы инфекционного контроля и учета применения антибактериальных препаратов в стационарах, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, остаются одной из наиболее значимых причин заболеваемости и летальности в отделениях гематологии, онкологии, трансплантологии. В последнее десятилетие грамотрицательные бактерии стали представлять собой реальную угрозу дальнейшему внедрению в практику здравоохранения высокотехнологичных процедур и операций [1, 2]. Например, по данным метаанализа, колонизация желудочно-кишечного тракта пациентов грамотрицательными микроорганизмами, продуцирующими β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), составила 14% [95% доверительный интервал (ДИ) 9–20] с ежегодным приростом в 5,38% [3]. Современные терапевтические подходы к лечению инфекций, обусловленных высокоустойчивыми грамотрицательными

микроорганизмами резко ограничены, особенно в ситуациях с выделением чрезвычайно резистентных представителей *Enterobacteriaceae* spp., *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. В то же время неадекватно назначенная эмпирическая антибактериальная терапия может привести к летальному исходу [4–6].

Известно, что возможности поиска новых антимикробных лекарственных средств ограничены, а человечество нуждается в современных методах профилактики и лечения инфекционных болезней. В связи с этим одним из наиболее перспективных направлений является изучение микробиома человека – набора генов микроорганизмов, ответственных за формирование микробиоты различных локализаций: микробных сообществ желудочно-кишечного тракта, кожи, слизистых оболочек половых органов и др. Например, общее число видов, составляющих нормальную микробиоту человека, сегодня насчитывает 10^{14} видов. Важность данного

микробного сообщества для организма человека определяется тем, что геном человека не в состоянии полностью обеспечивать продукцию витаминов групп В и К, синтез короткоцепочечных жирных кислот, ферментацию неперевариваемой растительной клетчатки, формирование и поддержание местного иммунитета, участие в работе слизистого барьера кишечника и многое другое, что успешно выполняют микроорганизмы-комменсалы. Доказана ассоциация спектра и характеристик микробиома кишечника с целым рядом инфекционных и неинфекционных заболеваний человека [7]. Следующий этап научных исследований – создание индивидуальных терапевтических средств с использованием защитных факторов микробиоты, что, вероятно, будет достигнуто в ближайшие годы.

Ранее проведенные исследования в области микробиома человека продемонстрировали, что разнообразный высокодифференцированный состав кишечной микробиоты имеет защитный эффект против ряда инфекций, включая способность предотвращать колонизацию кишечника высокоустойчивыми патогенами, а также возбудителями кишечных инфекций [8, 9]. Интересно отметить, что воспалительные процессы в исследованиях были обозначены как факторы, ведущие к доминированию *Gammaproteobacteria* в кишечнике посредством создания селективного преимущества при окислительном фосфорилировании для денитрифицирующих факультативных анаэробных микроорганизмов [10, 11].

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) – самая изученная клиническая модель глубокой иммуносупрессии в современных исследованиях микробиома человека. Данная процедура является одной из основных тактик лечения опухолевых заболеваний кроветворной ткани и иммунных нарушений, при этом новые показания к ее проведению появляются регулярно, общее количество трансплантаций в мире превышает 60 тыс. в год, а рубеж в первый миллион трансплантаций был преодолен в начале 2013 г. [12, 13].

Одновременное сочетание химиотерапевтически-ассоциированного мукозита и глубокой нейтропении приводит к высокому риску развития инфекций у пациентов с ТГСК. Бактериальные инфекции кровотока при аллогенной трансплантации выявляют в 20–34% случаев с существенными различиями между отдельными лечебными центрами и используемыми режимами кондиционирования перед ТГСК [14, 15]. Вполне ожидаемо, что на протяжении последнего десятилетия грамотрицательные инфекции начинают превалировать в медицинских центрах, осуществляющих ТГСК, составляя до 65% в общем спектре инфекций кровотока в Европе и США [16–18]. Высокие показатели летальности при этом впечатляют: например, при развитии инфекции, вызванной карбапенем-резистентной *K. pneumoniae*, уровень летальности превысил 60% [19].

До настоящего времени не было ясно, почему у отдельных пациентов на фоне иммуносупрессии развиваются инфекции кровотока и сепсис, а у других при не менее глубокой иммуносупрессии – нет. Данный вопрос и послужил причиной планирования и выполнения исследования инфекций кровотока с учетом характеристик микробиома человека, что потребовало активного междисциплинарного и международного взаимодействия.

Таблица 1. Базовые характеристики пациентов, включенных в исследование, и параметры трансплантационного периода

Показатель	Количество ТГСК (n=785) абс. (%)
<i>Возраст, годы</i>	
≤29	52 (6,76)
30–39	96 (12,2)
40–49	118 (15,0)
50–59	235 (29,9)
≥60	284 (36,2)
Мужской пол	475 (60,5)
<i>Основное заболевание</i>	
Лейкоз	396 (50,4)
Лимфома	131 (16,7)
Миелодисплазивный синдром	117 (14,9)
Миелопролиферативные нарушения	22 (2,8)
Множественная миелома	68 (8,7)
Другие	51 (6,5)
<i>Риск основного заболевания</i>	
Высокий	178 (22,7)
Промежуточный	187 (23,8)
Низкий	351 (44,7)
Неклассифицированный	69 (8,8)
<i>Режим кондиционирования</i>	
Миелоаблативный	375 (47,8)
Кондиционирование сниженной интенсивности	314 (40,0)
Немиелоаблативный	68 (8,7)
Неклассифицированный	28 (3,6)
<i>Источник трансплантата</i>	
Пуповинные гемопоэтические стволовые клетки	119 (15,2)
Периферические гемопоэтические стволовые клетки	486 (61,9)
Костный мозг	65 (8,3)
Другие (комбинированный)	87 (11,1)
Деплеция Т-клеток	359 (45,7)
<i>Антибактериальные препараты *</i>	
β-Лактамы	638 (81,3)
Фторхинолоны	605 (77,1)
Метронидазол	132 (16,8)
Ванкомицин внутривенно	737 (93,9)
Линезолид	75 (9,6)
<i>Грамотрицательные инфекции кровотока</i>	
<i>Escherichia coli</i>	37 (4,7)
<i>Klebsiella</i> spp.	8 (1,0)
Неферментирующие бактерии**	9 (1,2)
Другие грамотрицательные бактерии	7 (0,9)

Примечание. * – эпизоды назначения антибактериальных препаратов не взаимоисключаемы и не суммируются до 100%; ** – *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter* spp. ТГСК – трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

Таблица 2. Результаты регрессионного анализа доминирования грамотрицательных возбудителей в градиенте микробиоты кишечника на риск последующего развития инфекции кровотока (на таксономических уровнях: тип, класс, семейство, вид)

Инфекция кровотока	Время-зависимый фактор доминирования		
	уровень иерархии таксонов	ОР (95% ДИ)	p
<i>E. coli</i>	Тип <i>Proteobacteria</i>	9,95 (4,64–20,41)	<0,001
	Класс <i>Gammaproteobacteria</i>	9,33 (4,25–19,29)	<0,001
	Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	8,82 (3,91–18,45)	<0,001
	Вид <i>E. coli</i>	13,46 (5,96–28,19)	<0,001
<i>Klebsiella</i> spp.	Тип <i>Proteobacteria</i>	10,94 (2,51–41,59)	0,003
	Класс <i>Gammaproteobacteria</i>	12,06 (2,77–45,77)	0,002
	Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	13,15 (3,03–49,82)	0,002
	Виды <i>Klebsiella</i> spp.	19,82 (2,08–91,11)	0,016
<i>P. aeruginosa</i>	Тип <i>Proteobacteria</i>	1,46 (0,01–13,98)	0,811
	Класс <i>Gammaproteobacteria</i>	1,62 (0,01–15,48)	0,763
	Вид <i>P. aeruginosa</i>	40,30 (0,30–381,59)	0,102
<i>S. maltophilia</i>	Тип <i>Proteobacteria</i>	3,51 (0,02–65,78)	0,494
	Класс <i>Gammaproteobacteria</i>	3,92 (0,03–73,54)	0,461
	Вид <i>S. maltophilia</i>	138,00 (0,95–2586,84)	0,052
Грамотрицательная микрофлора	Вид <i>E. coli</i>	8,73 (4,16–16,78)	<0,001
	Виды <i>Klebsiella</i> spp.	5,00 (1,03–14,72)	0,047
	Тип <i>Proteobacteria</i>	7,85 (4,09–14,35)	<0,001
	Класс <i>Gammaproteobacteria</i>	7,69 (3,94–14,18)	<0,001
	Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	7,49 (3,77–13,97)	<0,001

Примечание. ОР – отношение рисков; полужирным шрифтом отмечен статистически значимый эффект доминирования.

Цель исследования – определить характеристики кишечного микробиома, ассоциируемые с развитием инфекций кровотока, на клинической модели пациентов с иммуносупрессией.

Материал и методы

Дизайн исследования, условия проведения и характеристика пациентов

Взрослые пациенты, госпитализированные для выполнения аллогенной ТГСК с 2012 по 2018 г. на базе Мемориального онкологического центра им. Слоуна–Кеттеринга (г. Нью-Йорк, США), были включены в одобренный протокол сбора и низкотемпературного замораживания образцов стула. Процедура сбора, обработки и подготовки биологического материала описана ранее [20].

Таблица 3. Доминирование конкретного микроорганизма в градиенте микробиоты кишечника не повышает риск развития инфекций кровотока другой этиологии по результатам регрессионной модели

Инфекция кровотока	Время-зависимый фактор доминирования		
	вид микроорганизма	ОР (95% ДИ)	p
<i>E. coli</i>	<i>S. maltophilia</i>	6,59 (0,05–47,64)	0,310
	<i>P. aeruginosa</i>	5,61 (0,04–39,81)	0,344
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>S. maltophilia</i>	34,01 (0,26–293,95)	0,113
	<i>P. aeruginosa</i>	42,19 (0,33–342,67)	0,098
<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	2,59 (0,02–24,81)	0,574
	<i>Klebsiella</i> spp.	7,95 (0,06–75,88)	0,282
<i>S. maltophilia</i>	<i>E. coli</i>	6,25 (0,04–117,23)	0,345
	<i>Klebsiella</i> spp.	19,43 (0,13–364,19)	0,170

Критерии включения в когортное исследование: наличие ≥ 3 последовательных высококачественных секвенированных биологических образцов стула у одного пациента. Клинические и микробиологические данные собирали у каждого из пациентов согласно дизайну исследования.

В качестве критериев определения инфекции кровотока были приняты дефиниции Центра контроля и профилактики заболеваний (Center for Disease Control and Prevention) [21]. MALDI-TOF масс-спектрометрию применяли рутинно для экспресс-идентификации патогенов. Среди параметров, которые учитывали в ходе проведения аналитического исследования, были возраст, пол пациентов, основное заболевание, режим кондиционирования перед ТГСК, источник гемопоэтических стволовых клеток, время, продолжительность и выбор антибактериальных препаратов, характеристики микробиома на различных этапах лечения. **Критерий доминирования** в градиенте кишечного микробиома – относительная распространенность одного бактериального таксона $>30\%$ [20].

Протокол исследования одобрен этическим советом Мемориального онкологического центра им. Слоуна–Кеттеринга, исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией, а также с учетом рекомендаций STROBE (STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology) по оформлению дизайна наблюдательных исследований.

Технические и лабораторные процедуры

После экстракции и очищения ДНК в каждом биологическом образце стула проводили ПЦР-амплификацию V4–V5 региона гена 16S rРНК с помощью модифицированных универсальных бактериальных праймеров. Очищенные ПЦР-продукты секвенировали с помощью платформы MiSeq Illumina. Филогенетическую классификацию до видового уровня

выполняли на основании байесовской модели, а также базы данных Greengenes: проверенной на химеризм базы генов 16S рРНК. Сиквенс-последовательности группировали в операционные таксономические единицы (ОТЕ) на основании 97% идентичности. Общее количество генов 16S рРНК в расчете на 1 г биологического материала, т.е. меру бактериальной плотности, рассчитывали с помощью количественного результата полимеразной цепной реакции исходя из общего количества ДНК, выделенного из каждого образца [20].

Обработка данных

Обработку и анализ обширного массива (Big Data) клинических, микробиологических и филогенетических данных выполняли с помощью программного кода. Код создан авторами применительно к данному исследованию на языке программирования R, в свободной программной среде вычислений с открытым исходным кодом в рамках проекта GNU, с периодическим применением высокоуровневого языка программирования общего назначения Python.

Линейный дискриминантный анализ размера эффекта (LEfSe) применяли для выявления филогенетических предикторов. Время-зависимую регрессионную модель отношения рисков Кокса использовали для выявления рисков развития инфекции кровотока и нарушения микробиома. Регрессионную модель корректировали с помощью пенализированной вероятности Firth. Вероятность развития инфекций в группах в течение времени наблюдения оценена методом Каплана–Майера с лог-ранк-тестом. В клиническую стадию мультивариантного анализа включены параметры со значением $p < 0,2$ в предшествующем моновариантном анализе. Обработку массивов данных, анализ и построение графиков выполняли в свободной программной среде вычислений R версии 3.4.0 (R Development Core Team, Vienna, Austria) и на высокоуровневом языке программирования Python (Python Software Foundation).

Результаты и обсуждение

В исследование были включены 765 пациентов согласно описанным выше критериям. В данной группе пациентов выполнено 785 процедур аллогенной ТГСК и собрано 5988 биологических образцов стула со средним количеством 34 845 высококачественных бактериальных сиквенс-последовательностей 16S рРНК на каждый образец. Каждый включенный в исследование пациент получал с лечебной или профилактической целью антибактериальные лекарственные средства, что учитывали в анализе. Был зарегистрирован 61 (8,0%) подтвержденный эпизод инфекции кровотока, вызванной грамотрицательными микроорганизмами. В табл. 1 представлены базовые клинические и демографические характеристики пациентов в исследовании.

По результатам линейного дискриминантного анализа размера эффекта было показано, что наличие в кишечнике $>30\%$ представителей типа *Proteobacteria* к 5-му дню после ТГСК напрямую ассоциировано с развитием инфекций кровотока, вызванных грамотрицательными бактериями ($p < 0,001$). В регрессионном анализе Кокса подтверждено, что предикторный эффект доминирования протеобактерий

Рис. 1. Кривая Каплана–Майера и лог-ранк-тест* вероятности развития инфекции кровотока, вызванной *E. coli*, в зависимости от предшествующего доминирования *E. coli* в градиенте микробиоты кишечника

*Лог-ранк-тест $p = 0,000$ означает, что $p < 0,0001$ по результатам программного анализа.

в основном реализуется за счет видов *E. coli* и *K. pneumoniae*, при этом его статистическая значимость сохраняется на всех таксономических уровнях (табл. 2).

Важно подчеркнуть, что данная модель дополнительно валидирована тем, что доминирование в градиенте микробиоты кишечника строго специфично и предшествует развитию инфекции кровотока, вызванной тем же самым микроорганизмом, а эффект других грамотрицательных инфекций исключен (табл. 3).

По результатам лог-теста доминирование в градиенте микробиоты кишечника *E. coli* и *Klebsiella pneumoniae* имело

Рис. 2. Кривая Каплана–Майера и лог-ранк-тест вероятности инфекции кровотока, вызванной *Klebsiella pneumoniae*, в зависимости от предшествующего доминирования *Klebsiella pneumoniae* в градиенте микробиоты кишечника

Рис. 3. Динамика относительной плотности грамотрицательных бактерий в кишечнике у пациентов при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: 0–1-й день эпизода грамотрицательной инфекции кровотока

По оси абсцисс – дни; по оси ординат – относительная плотность представителей протеобактерий; точками обозначены образцы фекального биоматериала; серый диапазон – 95% доверительный интервал.

статистически значимое влияние на риск развития соответствующих инфекций в посттрансплантационный период (рис. 1, 2).

В проведенном исследовании на большой когорте пациентов с глубокой иммуносупрессией было подтверждено, что доминирование в градиенте микробиоты кишечника представителей протеобактерий является время-зависимым предиктором возникновения последующей инфекции кровотока, при этом данный процесс является видоспецифичным и его влияние прослеживается на всех таксономических уровнях кишечного микробиома.

Время-зависимый характер влияния доминирования протеобактерий в градиенте микробиоты кишечника определяется тем, что нарастание плотности представителей этой группы бактерий предвосхищает попадание данных микроорганизмов в кровь, что наиболее вероятно на фоне мукозита, связанного с химиотерапией (см. рис. 3).

Если в качестве дня отсчета по оси абсцисс (день 0) взять 1-й день микробиологически подтвержденного эпизода грамотрицательной инфекции кровотока, станет очевидно, что увеличение относительной плотности грамотрицательных бактерий в кишечнике предшествует развитию именно данного типа инфекции в крови (рис. 3). На графике линия аппроксимации наглядно демонстрирует, что нарастание доминирования в градиенте микробиоты кишечника в итоге приводит к развитию инфекции кровотока, вызванной грамотрицательными микроорганизмами.

Механизмы защиты от кишечного доминирования представителей протеобактерий у человека еще следует выяс-

нить, в то время как в экспериментальных исследованиях на лабораторных животных уже показано, что важнейшим защитным барьером являются ингибиторные короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, пропионат и бутират), которые продуцируют нормальные представители дифференцированной кишечной микробиоты.

Исследовательской группой из США было продемонстрировано, что данные короткоцепочечные жирные кислоты, будучи терминальными продуктами расщепления растительных пищевых волокон с помощью кишечных бактерий, являются противовоспалительными медиаторами кишечника и играют важнейшую роль в кишечном гомеостазе [22].

Таким образом, создание терапевтических препаратов на основе данных кислот является перспективным научным направлением. Не менее важно отметить новые показания к применению трансплантации фекальной микробиоты, которую уже используют как метод борьбы с кишечным доминированием или колонизацией кишечника высокоустойчивыми грамотрицательными бактериями, особенно у пациентов группы риска с иммуносупрессией, что уже подтверждено в экспериментах на лабораторных животных [23]. Стоит отметить, что результаты выполненного исследования следует применять не только как метод прогнозирования опасных осложнений в гематологии, онкологии, трансплантологии, но и как основу для разработки точечных лечебно-профилактических интервенций на основе микробиоты, что позволит повысить выживаемость значительного количества пациентов с иммуносупрессией.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ

Стома Игорь Олегович (Igor O. Stoma) – доктор медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней Белорусского государственного медицинского университета, Минск, Республика Беларусь; приглашенный исследователь Центра изучения микроорганизмов, воспаления и рака на базе Мемориального онкологического центра им. Слоуна–Кеттеринга, Нью-Йорк, США
E-mail: igor.stoma@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0483-7329>

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Albiger B., Glasner C., Struelens M.J., Grundmann H., Monnet D.L., et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill.* 2015; 20(45). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.45.30062
2. Kazmierczak K.M., Rabine S., Hackel M., McLaughlin R.E., Biedenbach D.J., Bouchillon S.K., et al. Multiyear, multinational survey of the incidence and global distribution of metallo- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60 (2): 1067–78. doi: 10.1128/AAC.02379-15
3. Karanika S., Karantanos T., Arvanitis M., Grigoras C., Mylonakis E. Fecal colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and risk factors among healthy individuals: a systematic review and metaanalysis. *Clin Infect Dis.* 2016; 63 (3): 310–8. doi: 10.1093/cid/ciw283
4. Bassetti M., Peghin M., Pecori D. The management of multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Infect Dis.* 2016; 29 (6): 583–94.
5. Tumbarello M., Trecarichi E.M., De Rosa F.G., Giannella M., Giacobbe D.R., Bassetti M., et al. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70 (7): 2133–43. doi: 10.1093/jac/dkv086
6. Falcone M., Russo A., Iacovelli A., Restuccia G., Ceccarelli G., Giordano A., et al. Predictors of outcome in ICU patients with septic shock caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22 (5): 444–50. doi: 10.1016/j.cmi.2016.01.016
7. Becattini S., Taur Y., Pamer E.G. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol Med.* 2016; 22 (6): 458–78. doi: 10.1016/j.molmed.2016.04.003
8. Buffie C.G., Pamer E.G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2013; 13 (11): 790–801. doi: 10.1038/nri3535
9. Vogt S.L., Finlay B.B. Gut microbiota-mediated protection against diarrheal infections. *J Travel Med.* 2017; 24 (1): S39–43. doi: 10.1093/jtm/taw086
10. Scales B.S., Dickson R.P., Huffnagle G.B. A tale of two sites: how inflammation can reshape the microbiomes of the gut and lungs. *J Leukoc Biol.* 2016; 100 (5): 943–50.
11. Stecher B. The roles of inflammation, nutrient availability and the commensal microbiota in enteric pathogen infection. *Microbiol Spectr.* 2015; 3 (3). doi: 10.1128/microbiolspec.MBP-0008-2014
12. Gratwohl A., Baldomero H., Passweg J. Hematopoietic stem cell transplantation activity in Europe. *Curr Opin Hematol.* 2013; 20 (6): 485–93. doi: 10.1097/MOH.0b013e328364f573
13. Gratwohl A., Pasquini M.C., Aljurf M., Atsuta Y., Baldomero H., Foeken L., et al. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *Lancet Haematol.* 2015; 2 (3): e91–100. doi: 10.1016/S2352-3026(15)00028-9
14. Balletto E., Mikulska M. Bacterial infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2015; 7 (1): e2015045. doi: 10.4084/MJHID.2015.045
15. Gjaerde L.I., Moser C., Sengelov H. Epidemiology of bloodstream infections after myeloablative and non-myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single-center cohort study. *Transplant Infect Dis.* 2017; 19 (5): e12730. doi: 10.1111/tid.12730
16. Averbuch D., Tridello G., Hoek J., Mikulska M., Akan H., Yanez San Segundo L., et al. Antimicrobial resistance in gram-negative rods causing bacteremia in hematopoietic stem cell transplant recipients: Intercontinental Prospective Study of the Infectious Diseases Working Party of the European Bone Marrow Transplantation Group. *Clin Infect Dis.* 2017; 65 (11): 1819–28. doi: 10.1093/cid/cix646
17. Stoma I., Karpov I., Milanovich N., Uss A., Iskrov I. Risk factors for mortality in patients with bloodstream infections during the pre-engraftment period after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Res.* 2016; 51 (2): 102–6. doi: 10.5045/br.2016.51.2.102
18. Trecarichi E.M., Pagano L., Candoni A., Pastore D., Cattaneo C., Fanci R., et al. Current epidemiology and antimicrobial resistance data for bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies: an Italian multicentre prospective survey. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21 (4): 337–43. doi: 10.1016/j.cmi.2014.11.022
19. Forcina A., Baldan R., Marasco V., Cichero P., Bondanza A., Novello M., et al. Control of infectious mortality due to carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2017; 52 (1): 114–9. doi: 10.1038/bmt.2016.234
20. Taur Y., Xavier J.B., Lipuma L., Ubeda C., Goldberg J., Gbourne A., et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2012; 55 (7): 905–14. doi: 10.1093/cid/cis580
21. Bloodstream infection event (Central line-associated bloodstream infection and non-central line associated bloodstream infection). URL: https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/4psc_clabscurrent.pdf (date of access March 13, 2018)
22. Thorburn A.N., Macia L., Mackay C.R. Diet, metabolites, and “western-lifestyle” inflammatory diseases. *Immunity.* 2014; 40 (6): 833–42. doi: 10.1016/j.immuni.2014.05.014
23. Caballero S., Carter R., Ke X., Sušac B., Leiner I.M., Kim G.J., et al. Distinct but spatially overlapping intestinal niches for vancomycin-resistant enterococcus faecium and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *PLoS Pathogens.* 2015; 11 (9): e1005132. doi: 10.1371/journal.ppat.1005132