

**ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КАК ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИЙ КРОВОТОКА ПРИ ГЕМОБЛАСТОЗАХ****А.В.Кулешова, В.Н.Чеботкевич****CHANGES IN THE COMPOSITION OF THE MICROBIOTA AS A PREDICTOR OF THE DEVELOPMENT OF BLOODSTREAM INFECTIONS IN HEMOBLASTOSIS****A.V.Kuleshova, V.N.Chebotkevich***Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии  
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, [alenabs@yandex.ru](mailto:alenabs@yandex.ru)*

Множественная миелома (ММ) составляет около 1% среди онкологических заболеваний и более 10% от общего числа гемобластозов. Высокодозная химиотерапия с последующей аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) является стандартным методом лечения ММ. Существенную роль в развитии инфекций кровотока при гемобластозах и, в частности, при ММ играет эндогенное инфицирование крови через кишечник. Ведущим фактором, способствующим возникновению нарушений микробиома, является антибактериальная терапия. Появление новых лекарственных средств, таких как ингибиторы протеасом и моноклональных антител, не исключили аутоТГСК и сохранили ее важное значение при лечении больных. Целью нашего исследования явилось изучение изменения микробиома кишечника до аутоТГСК и после ее проведения у пациентов с ММ.

**Ключевые слова:** *больные с гемобластозами, инфекционные осложнения*

**Для цитирования:** *Кулешова А.В., Чеботкевич В.Н. Изменение состава микробиоты как предиктор развития инфекций кровотока при гемобластозах // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2022. №4(129). С.84–86. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4\(129\).84-86](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).84-86)*

Multiple myeloma (MM) accounts for about 1% of oncological diseases and more than 10% of the total number of hemoblastoses. High-dose chemotherapy followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation (autoHSCT) is the standard treatment. An essential role in the development of bloodstream infections in hematological malignancies and, particularly, in MM is played by endogenous infection of the blood through the intestines. The leading factor contributing to the occurrence of microbiome disorders is antibacterial therapy. The emergence of new drugs such as proteasome inhibitors and monoclonal antibodies did not rule out autoHSCT and retained its importance in the treatment of patients. The aim of our study was to investigate changes in the gut microbiome before and after autoHSCT in patients with MM.

**Keywords:** *patients with hemoblastoses, infectious complications*

**For citation:** *Kuleshova A.V., Chebotkevich V.N. Changes in the composition of the microbiota as a predictor of the development of bloodstream infections in hemoblastosis. Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2022. Vol.4(129). Pp.84–86. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4\(129\).84-86](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).84-86)*

**Введение**

Бактериальные инфекции являются основным фактором, отягчающим течение множественной миеломы и повышающим летальность больных. В настоящее время признано, что эндогенное заражение из кишечника является основным путем проникновения микробов в кровоток. Это меняет представление о патогенезе грамотрицательных инфекций кровотока и позволяет рассматривать микробиом кишечника как фактор развития инфекций кровотока у иммунокомпromетированных онкогематологических пациентов. Современные подходы к лечению системных инфекций ограничены, особенно в ситуациях с выделением антибиотико-резистентных представителей семейства Enterobacterales [1–3]. Назначение неадекватной эмпирической антибактериальной терапии связано с риском развития сепсиса и летального исхода. С дру-

гой стороны, адекватно выбранная антибиотикотерапия приводит к разрушению бактерий, значительному повышению уровня бактериальных эндотоксинов (БЭ) и развитию эндотоксинемии и требует персонализированного применения экстракорпоральных методов лечения сепсиса [4]. Поэтому определение уровня БЭ в крови является важным условием назначения адекватного лечения.

**Материалы и методы**

Исследовали 42 пациента с ММ в возрасте 48–60 лет (медиана 60 лет), госпитализированных в период с февраля 2020 по ноябрь 2021 г. для выполнения аутоТГСК. Для оценки микробиомной палитры кишечника у всех пациентов в до- и посттрансплантационном периоде проводился забор кала. Далее из биологического материала экстрагировали ДНК и выполняли ПЦР амплификацию V5 региона гена

16Sr РНК с помощью модифицированных универсальных праймеров. Очищенные ПЦР продукты секвенировали на платформе MiSeqIllumina. Исследовали также частоту выявления энтеробактерий — продуцентов БЛРС. Для определения уровня бактериального эндотоксина (БЭ) в крови использовали полуколичественный метод с применением диагностического набора «МАЧ-endotox spp» [5].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 22. Для характеристики результатов были определены средние значения медианы, доли в процентах.

### Результаты и обсуждение

Исследование показало, что среди возбудителей инфекций кровеносного русла грамположительные бактерии составили 58%, грамотрицательные — 42%. Однако системные инфекции кровеносного русла достоверно чаще ( $p \leq 0,05$ ) обнаруживались у больных с выявлением в крови грамотрицательных бактерий.

Оценку динамики изменения микробиоты кишечника на уровне отдельных бактериальных биотипов в разные периоды до и после трансплантации проводили с помощью парного теста Уилкоксона. Показано, что достоверное снижение на уровне типа на 14–30 сутки после аутологичной ТГСК выявлено только в отношении Actinobacteria (Wilcoxon paired test = 18,  $p = 0,0184$ ). Достоверных изменений на уровне типов Bacteroides, Firmicutes, Proteobacteria не обнаружено. Показано также, что при развитии фебрильной нейтропении наблюдается достоверное снижение типа Proteobacteria (Mann — Whitney U test = 38), что может быть связано с немедленным назначением эмпирической антибактериальной терапии при фебрильной нейтропении, направленной в первую очередь на грамотрицательные возбудители. Это существенно снижает плотность Proteobacteria в кишечном микробиоме [6].

Антибиотики способствовали отбору полирезистентных энтеробактерий, среди которых весомую долю составляют энтеробактерии продуценты бета-лактамазы с расширенным спектром (БЛРС). В нашем исследовании энтеробактерии с продукцией БЛРС были выявлены в 24% культур, выделенных у больных, в том числе и у всех 3 штаммов, выделенных из крови. Исследование показало, что под влиянием антибактериальной терапии у больных происходит изменение микробиома кишечника, заключающееся в снижении количества лактобацилл и развитии анаэробного дисбаланса. Тяжелое клиническое течение после аллотГСК, закончившееся летально, наблюдалось у одного пациента. За период наблюдения в течение месяца у него было выявлено увеличение количества E.coli в микробиоме на  $4 \lg$  (с  $10^6$  до  $10^9$ ). Это было расценено как предиктор развития системной инфекции кровеносного русла.

Изучен индекс альфа-разнообразия микробиома (индекс Шеннона) в разные периоды аутоТГСК. Выявлено достоверное снижение индекса разнообразия ( $p = 0,0215$ ) в период после проведения ТГСК. Снижение индекса Шеннона при аллогенной ТГСК

(аллотГСК) было известно и ранее. Наши данные показали, что достоверное снижение индекса альфа-разнообразия микробиоты наблюдается и при аутоТГСК. Известно, что разнообразный, высокодифференцированный кишечный микробиом имеет защитный эффект против ряда инфекций, включая способность предотвращать колонизацию кишечника высокоустойчивыми патогенами.

Использование кишечного микробиома в качестве предиктора развития системных инфекций позволяет со значительной вероятностью проводить адекватное лечение до получения микробиологического исследования. Следует особо отметить трудности микробиологической диагностики инфекций кровотока. Частота выявления возбудителя по разным данным составляет от 40 до 80%. Однако совершенствование микробиологических методов за счет использования молекулярных подходов позволяет значительно повысить частоту микробиологического подтверждения случаев системных бактериальных инфекций [7].

Как было указано выше, присутствующий во внешней мембране всех грамотрицательных бактерий БЭ при попадании в кровеносную систему человека способен вызвать сильный воспалительный ответ, в тяжелых случаях приводящий к развитию сепсиса с высокой вероятностью летального исхода. Исследование уровня БЭ проводили полуколичественным методом с использованием набора «МАЧ-endotox spp» [5] у 36 больных. Показано, что во всех исследованных случаях результат был отрицательный ( $n = 34$ ) или слабоположительный ( $n = 2$ ). В этой серии исследований у 4 пациентов были выделены бактерии в крови. В одном случае был отмечен слабоположительный результат определения БЭ, что соответствует уровню БЭ 7,5–30 пг/мл. Важно отметить, что у этого же больного E.coli была выявлена в крови. Таким образом, в результате проведенных в этой серии исследований показано, что среди обследованных больных уровень БЭ не достигал высокого уровня. Инфекционные агенты в крови были выявлены у 4 из 36 обследованных пациентов (в 3 случаях E.coli и в одном Enterobacter spp). Только в одном случае наблюдался слабоположительный результат по определению уровня БЭ. У этого же больного E.coli также была выявлена в крови. Эти результаты позволяют констатировать, что при наличии выявленных культур энтеробактерий в крови уровень БЭ остается низким. В то же время следует подчеркнуть, что определение уровня БЭ важно для диагностики эндотоксемии и проведения в этих случаях персонализированного антитоксического лечения.

### Выводы

Микробиом кишечника следует рассматривать как фактор развития инфекций кровотока у иммунокомпрометированных онкогематологических пациентов. Использование кишечного микробиома в качестве предиктора развития системных инфекций позволяет со значительной вероятностью проводить адекватное лечение до получения микробиологического исследования.

Присутствующий во внешней мембране всех грамотрицательных бактерий БЭ при попадании в кровеносную систему человека способен вызвать сильный воспалительный ответ, в тяжелых случаях приводящий к развитию септического шока с высокой вероятностью летального исхода. Поэтому определение уровня БЭ в крови необходимо для выявления эндотоксинемии и проведения персонализированного антитоксического лечения.

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К. М. Множественная миелома: руководство для врачей. М: Специальное издательство медицинских книг, 2016. 504 с.
2. Чеботкевич В.Н., Кулешова А.В., Киселева Е.Е., Бессмельцев С.С. Микробиом человека и его роль в гемопоэзе и в развитии множественной миеломы // Вестник гематологии. 2021. Т. XVII, № 3. С.4–10.
3. Roma Al Hamed, A. et al. Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma // Blood Cancer J. 2019. Vol.9, N4. P.44. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41408-019-0205-209>.
4. Anisimova N.Yu. Immunological pathogenesis of sepsis and use of hemosorption for treatment of cancer patients with sepsis. N.Y.: Nova Science Publishers Inc, 2014. P.57–114.
5. Ниязматов А.А., Григорянц Р.Г., Самсонова Н.Н. и др. Выявление эндотоксина грамотрицательных бактерий с помощью диагностических наборов «МАЧ-endotox spp» в компонентах донорской крови и его сравнение с уровнем интерлейкинов // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Сердечно-сосудистые заболевания. 2011. Т.12, №6. С.79–83.
6. Чеботкевич В.Н., Ковалев А.А., Стома И.О. и др. Изменения микробиома кишечника у пациентов с множественной миеломой при аутологичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток // Вестник гематологии. 2022. Т.18, №1. С.4–7.
7. Чеботкевич В.Н., Мартенс Э.А., Сидоренко С.В. и др. Ускоренный метод идентификации бактерий и микромицетов в гемокультурах у детей с использованием мультиплексной ПЦР в режиме реального времени // Журнал инфектологии. 2019. Т.11, №4. С.107–112. DOI: <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-4-107-112>.

## References

1. Bessmeltsev S.S., Abdulkadyrov K.M. Mnozhestvennaya miyeloma: rukovodstvo dlya vrachey [Multiple myeloma: a guide for physicians]. Moscow, Spetsial'noye izdatel'stvo meditsinskikh knig Publ., 2016. 504 p.
2. Chebotkevich V.N., Kuleshova A.V., Kiseleva E.E., Bessmeltsev S.S. Mikrobiom cheloveka i yego rol' v gemopoeze i v razvitii mnozhestvennoy miyelomy [Human microbiome and its role in hematopoiesis and in the development of multiple myeloma]. Vestnik gematologii — Bulletin of Hematology, 2021, vol.XVII, no.3, pp.4–10.
3. Roma Al Hamed, A., et al. Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma. Blood Cancer J., 2019, vol.9, no.4, p.44. doi: <https://doi.org/10.1038/s41408-019-0205-209>
4. Anisimova N. Yu. Immunological pathogenesis of sepsis and use of hemosorption for treatment of cancer patients with sepsis. New York, Nova Science Publishers Inc., 2014, pp.57–114.
5. Niyazmatov A.A., Grigoryants R.G., Samsonova N.N. Vyyavleniye endotoksina gramotritsatel'nykh bakteriy s pomoshch'yu diagnosticheskikh naborov «MACH-endotox spp» v komponentakh donorskoy krovi i yego sravneniye s urovнем interleykinov [Detection of endotoxin of gram-negative bacteria using diagnostic kits «MACH-endotox spp.» in components of the donor blood and its comparison with the level of interleukins]. Byulleten' NTSSSKH im. A.N. Bakuleva RAMN «Serdechno-sosudistyye zabolevaniya» — The Bulletin of Bakoulev Center. Cardiovascular Diseases, 2011, vol.12, no.6, pp.79–83.
6. Chebotkevich V.N., Kovalev A.A., Stoma I.O. Izmeneniya mikrobioma kishchchnika u patsiyentov s mnozhestvennoy miyelomoy pri autologichnoy transplantatsii gemopoeticheskikh stvolovykh kletok [Changes in the gut microbiome in patients with multiple myeloma after autologous hematopoietic stem cell transplantation]. Vestnik gematologii — Bulletin of Hematology, 2022, vol.18, no.1, pp.4–7.
7. Chebotkevich V.N., Martens E.A., Sidorenko S.V., et al. Uskorenyy metod identifikatsii bakteriy i mikromitsetov v gemokult'urakh u detey s ispol'zovaniyem multipleksnoy PTSR v rezhime real'nogo vremeni [Accelerated method for identification of bacteria and micromycetes in blood cultures in children using multiplex real-time PCR]. Zhurnal infektologii — Journal Infectology, 2019, vol.11, no.4, pp.107–112. doi: <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-4-107-112>.