

Fecal microbiota transplantation in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Oleg V. Goloshchapov¹, Maxim A. Kucher¹, Ivan S. Moiseev¹, Alexander N. Shvetcov¹, Ruslana V. Klementeva¹, Alexander A. Shcherbakov¹, Sergey V. Sidorenko², Vladimir A. Gostev², Maria A. Suvorova³, Oksana V. Stanevich¹, Evgeny A. Bakin¹, Alexey B. Chukhlov¹, Ludmila S. Zubarovskaya¹, Boris V. Afanasyev¹

¹ Raisa Gorbacheva Memorial Institute for Children Oncology, Hematology and Transplantation at the First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University

² Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg, Russia

³ Explana Research Laboratory, St. Petersburg, Russia

Contacts: Dr. Oleg V. Goloshchapov

E-mail: golocht@yandex.ru

Introduction

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) is effective method of treatment of malignant, hematological and hereditary diseases. Common complications after allo-HSCT, which may decrease its effectiveness, include infectious lesions of the gastrointestinal tract of viral etiology and *Clostridium difficile* on the background of immunodeficiency, antibiotic-associated diarrhea and graft-versus-host disease (GvHD). Transplantation of fecal microbiota (FMT) from a healthy donor can lead to eradication of pathogens, modulation of the recipient's immune system and as a consequence to a decrease in intestinal GVHD activity. Aim of our study was to increase treatment efficiency of complications associated with *Clostridium difficile* and intestinal GvHD in patients after allo-HSCT.

Patients and methods

From 2015 to 2018 in Raisa Gorbacheva Memorial Institute for Children Oncology, Hematology and Transplantation 11 patients after allo-HSCT from matched unrelated donor – 36.5% (n=4), related donor – 9% (n=1), haploidentical donor – 54.5% (n=6) with acute lymphoblastic leukemia – 18.3% (n=2), acute myeloid leukemia – 27.4% (n=3), myelodysplastic syndrome – 18.3% (n=2), beta-thalassemia – 9% (n=1), chronic myeloid leukemia – 9% (n=1), Hodgkin's lymphoma – 9% (n=1), Fanconi's anemia – 9% (n=1) were included in a single-center prospective study. All patients underwent FMT for the treatment of posttransplant complications. The median age was 24 years (2-45). Three patients were excluded from the study due to violation of FMT technique (n=2), development of severe systemic inflammatory response syndrome (n=1). The duration of diarrhea before FMT was from 1 to 6 months (median – 2.3) and was observed in all patients. Active intestinal bleeding with the need of daily blood transfusions for the correction of anemic syndrome was registered in 5 (45.5%) patients, additionally blood impurity in stool was determined in 4 (36.4%) patients. 5 patients had sepsis (45.5%) and one patient was in septic shock associated with *Klebsiella pneumoniae* and received antibiotic therapy, vasopressors, mechanical ventilation. Abdominal pain requiring analgesia with opioids was noted in 9 (81.8%) patients. Gastrointestinal paresis was observed in 5 (45.5%) patients. 8 (72.7%) patients had positive clostridial toxin-B in stool. Elevated fecal calprotectin level – 600 µg/g (220-6706) before FMT was identified in 7 (63.6%)

patients. FMT was performed on D+168 (27-1107). Microbiota donors were patient's relatives or unrelated donors who met all infectious safety requirements. Before and after FMT D+3, D+8, D+16, D+30, D+45, D+60, D+75, D+90 real-time multiplex PCR ("Colonoflor-16") was performed to determine the main groups of intestinal microorganisms. 3 patients underwent 16S RNA stool sequencing prior FMT.

Results

A complete clinical response was observed in 64% of patients. The reduction in the frequency and volume of diarrhea by 2 times was observed on D+18 (1 – 39) and D+14 (1 – 11) after FMT, respectively. Complete regression of pathological impurities in the stool (blood, mucus) was recorded at D+13 (2-11), D+30 (1-97) and abdominal pain syndrome at D+15 (5-31), respectively. Clostridial toxin-B in stool samples at D+30 was not detected in 4 (50%) previously positive cases. The results of multiplex PCR showed changes in gut microbiota after FMT. The maximum increase in the main groups of intestinal microorganisms was recorded after FMT for the total bacterial mass at D+8 from 3E+08 (9E+05/ 1E+11) to 1.65 E+12 (7E+10/ 7E+12), for *Lactobacillus spp.* on D+3 7E+05 (1E+04/2E+09) to 3E+08 (7E+05/ 3E+09) and for *Bifidobacterium spp.* on D+30 3E+06 (9E+04/ 3E+08) to 1E+08 (3E+06/ 6E+09), *Escherichia coli* on D+3 7E+05 (0.0 E+00/7E+06) to 3E+07 (2E+06/ 3E+09), for *Bacteroides fragilis* group on D+8 1.1 E+07 (0.0 E+00/4E+08) to 1.6 E+12 (3E+06/7E+12), *Faecalibacterium prausnitzii* on D+3 3E+05 (0.0 E+00/8E+07) to 3E+08 (1E+05/ 3E+09). 16S RNA stool sequencing before FMT revealed marked disturbances of intestinal microbiota with predominance of microorganisms of the following families: *Streptococcaceae*, *Staphylococcaceae*, *Enterococcaceae*.

Conclusion

FMT is effective and safe method of treatment for infectious complications associated with *Clostridium difficile* and intestinal GvHD in patients after allo-HSCT.

Keywords

Hematopoietic stem cell transplantation, fecal microbiota transplantation, graft-versus-host disease.

Трансплантация фекальной микробиоты у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Олег В. Голощапов¹, Максим А. Кучер¹, Иван С. Моисеев¹, Александр Н. Швецов¹, Руслана В. Клементьева¹, Александр А. Щербаков¹, Сергей В. Сидоренко², Владимир А. Гостев², Мария А. Суворова³, Оксана В. Станевич¹, Евгений А. Бакин¹, Алексей Б. Чухловин¹, Людмила С. Зубаровская¹, Борис В. Афанасьев¹

¹ НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, Россия

³ Научно-исследовательская лаборатория Explana, Санкт-Петербург, Россия

Введение

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) – эффективный метод терапии онкологических, гематологических и наследственных заболеваний. Распространенными осложнениями алло-ТГСК, которые приводят к снижению эффективности лечения, являются: инфекционное поражение желудочно-кишечного тракта вирусной этиологии и/или ассоциированное с *Clostridium difficile* на фоне иммунодефицита; антибиотикассоциированная диарея; реакция трансплантат против хозяина (РТПХ). Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) от здорового донора может приводить к эрадикации патогенных микроорганизмов, модуляции иммунной системы реципиента и как следствие к снижению активности РТПХ кишечника. Целью работы является повышение эффективности лечения осложнений у пациентов после алло-ТГСК ассоциированных с *Clostridium difficile* и РТПХ кишечника.

Пациенты и методы

С 2015 по 2018 год в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой в одноцентровое, проспективное исследование включено 11 пациентов после алло-ТГСК от неродственного донора – 36,5% (n=4), родственного – 9% (n=1), гаплоидентичного – 54,5% (n=6) с целью терапии острого лимфобластного лейкоза – 18,3% (n=2), острого миелоидного лейкоза – 27,4% (n=3), миелодиспластического синдрома – 18,3% (n=2), бета-талассемии – 9% (n=1), хронического миелолейкоза – 9% (n=1), Лимфомы Ходжкина – 9% (n=1), анемии Фанкони – 9% (n=1). Для лечения посттрансплантационных осложнений всем пациентам была выполнена ТФМ. Медиана возраста составила 24 года (2-45). Из исследования исключено трое больных из-за нарушения техники ТФМ (n=2), развития тяжелого синдрома системного воспалительного ответа (n=1). Длительность диареи перед ТФМ составила от 1 до 6 мес. (медиана – 2,3) и наблюдалась у всех пациентов. У 5 (45,5%) больных регистрировали активное кишечное кровотечение с необходимостью ежедневных гемотрансфузий для коррекции анемического синдрома, еще у 4 (36,4%) больных в стуле определялись прожилки крови. В состоянии сепсиса было 5 пациентов (45,5%), а один пациент находился в состоянии септического шока (*Klebsiella pneumoniae*) и получал антибактериальную терапию, вазопрессоры, искусственную вентиляцию легких. Абдоминальный болевой синдром, требующий анальгезии наркотическими анальгетиками отмечали у 9 (81,8%) пациентов. Парез кишечника наблюдали у 5 (45,5%) больных. У 8 (72,7%) пациентов выявлен поло-

жительный клостридиальный токсин-В в стуле, повышенный уровень фекального кальпротектина до ТФМ у 7 (63,6%) пациентов 600 мкг/г (220-6706). Введение фекального трансплантата выполняли на Д+168 (27-1107). Донорами микробиоты были родственники пациентов и неродственные доноры, которые соответствовали требованиям инфекционной безопасности. До и после ТФМ в дни +3, +8, +16, +30, +45, +60, +75, +90 для определения основных групп кишечных микроорганизмов проведено исследование стула методом мультиплексной ПЦР («Колонофлор-16»). Трем пациентам до ТФМ выполнено 16S РНК секвенирование образцов стула.

Результаты

У 64% пациентов отмечен полный клинический ответ. Сокращение частоты и объема диареи в 2 раза наблюдали на Д+18 (1-39) и Д+14 (1-11) после ТФМ соответственно. Полный регресс патологических примесей в стуле (кровь, слизь) регистрировали на Д+13 (2-11), Д+30 (1-97) и абдоминального болевого синдрома на Д+15 (5-31) соответственно. Клостридиальный токсин-В в образцах стула на Д+30 не определялся у 4 (50%) ранее положительных пациентов. Результаты мультиплексной ПЦР показали изменение микробиоты кишечника после ТФМ. Максимальное увеличение основных групп кишечных микроорганизмов регистрировали после ТФМ для общей бактериальной массы на Д+8 с 3E+08 (9E+05/1E+11) до 1,65E+12 (7E+10/7E+12), для *Lactobacillus spp.* на Д+3 с 7E+05 (1E+04/2E+09) до 3E+08 (7E+05/3E+09), для *Bifidobacterium spp.* на Д+30 с 3E+06 (9E+04/3E+08) до 1E+08 (3E+06/6E+09), для *Escherichia coli* на Д+3 с 7E+05 (0,0E+00/7E+06) до 3E+07 (2E+06/3E+09), для *Bacteroides fragilis* group на Д+8 с 1,1E+07 (0,0E+00/4E+08) до 1,6E+12 (3E+06/7E+12), для *Faecalibacterium prausnitzii* на Д+3 с 3E+05 (0,0E+00/8E+07) до 3E+08 (1E+05/3E+09). 16S РНК-секвенирование образцов стула до ТФМ выявило выраженные нарушения микробиоты кишечника с преобладанием микроорганизмов следующих семейств: *Streptococcaceae*, *Staphylococcaceae*, *Enterococcaceae*.

Выводы

ТФМ имеет высокую клиническую эффективность и безопасность у пациентов после алло-ТГСК при развитии инфекции, ассоциированной с *Clostridium difficile* и РТПХ кишечника.

Ключевые слова

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, трансплантация фекальной микробиоты, реакция трансплантат против хозяина.