

На правах рукописи

Жакот Анна Николаевна

Влияние технологии забора материала на достоверность результатов  
бактериологического исследования дыхательных путей у больных со  
злокачественными опухолями лёгких

03.02.03 — микробиология  
14.01.12 — онкология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2016

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно - исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор  
доктор медицинских наук

**Митрохин Сергей Дмитриевич**  
**Соколов Дмитрий Викторович**

**Официальные оппоненты:**

**Быков Анатолий Сергеевич** - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, профессор кафедры

**Чхиквадзе Владимир Давидович** - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, хирургическая клиника, заведующий научно - исследовательским отделом хирургии и хирургических технологий в онкологии

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.046.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Московский научно - исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, <http://www.gabrich.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, доцент

Борисова Ольга Юрьевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### ВВЕДЕНИЕ

#### Актуальность темы исследования

В процессе лечения пациентов со злокачественными опухолями лёгких самое частое осложнение (50% - 70%) - респираторная инфекция. Одним из наиболее грозных осложнений, приводящих к смерти больных оперированных по поводу рака лёгкого, несмотря на антибактериальную профилактику, является нозокомиальная пневмония (Трахтенберг А.Х., 2009; Akinosoglou K.S., 2013).

Основные факторы риска нозокомиальной пневмонии после резекции лёгкого формируются из - за продолжительности пребывания больного в стационаре, необходимости длительной искусственной вентиляции лёгких, характера ранее перенесённой больным антибактериальной терапии. Важнейшим является наличие у больного потенциально устойчивых к лекарственным препаратам микробных патогенов, особенно метициллин - резистентного *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* ( Mitas L., 2010).

Развитие послеоперационной пневмонии нередко провоцируют ателектазы лёгких, нарушения дренирующей функции бронхов и скопление бронхиального секрета на фоне использования седативных и анальгезирующих препаратов. Эти обстоятельства приводят к тому, что у 7,6% - 20% пациентов с опухолями лёгких пневмония приобретает деструктивные формы с наличием каверн и абсцессов. В большинстве случаев деструкции отмечены при мелкоклеточном раке лёгкого, реже - при аденокарциноме и крупноклеточном раке (Radu M., 2007).

В 50% - 90% случаев рак лёгкого сочетается с хронической обструктивной болезнью лёгких (ХОБЛ), которая, как правило, ассоциирована с инфекцией в дыхательных путях (Young R.P., 2009; Yao H., 2009; Punturieri A., 2009). Противоопухолевое лечение этой категории больных проходит особенно тяжело из - за более частых инфекционных осложнений лёгких.

По мнению зарубежных авторов, у больных со злокачественными опухолями лёгких практически отсутствуют данные о респираторной инфекции и поэтому в клинической практике приходится использовать информацию об относительно здоровых людях, а если рак лёгкого сочетается с ХОБЛ выявляются микроорганизмы характерные для обострения хронического бронхита (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*) (Akinosoglou K.S., 2013). Некоторые авторы утверждают, что у пациентов с ассоциацией рака лёгкого и ХОБЛ имеется высокий риск туберкулёзной и нетуберкулёзной микобактериальной инфекции (Bordignon V., 2011). В отечественной литературе нами найдена всего одна работа об изучении характера микрофлоры у больных со злокачественными опухолями лёгких, в которой представлены факты наиболее часто встречающихся и

клинически значимых нозокомиальных микроорганизмов в торакальном отделении РОНЦ им. Н.Н. Блохина (Дмитриева Н.В., 2011).

На сегодняшний день отсутствует единое мнение о роли различных микроорганизмов в развитии нозокомиальной пневмонии и не вполне ясным представляется вопрос о характере и значимости микробной колонизации нижних дыхательных путей.

Таким образом, для проведения адекватной противомикробной терапии у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, сочетанных с ХОБЛ необходимо подробное микробиологическое изучение материала из дыхательных путей. По нашему мнению, только такой подход позволит уменьшить количество инфекционных осложнений и улучшить результаты лечения в онкологической клинике.

### **Степень разработанности темы исследования**

Проблема микробиологического исследования дыхательных путей для выявления возбудителей нозокомиальных инфекций лёгких изучается на протяжении нескольких последних десятилетий. Однако, на данный момент остаются актуальными вопросы исследования этиологии и патогенеза нозокомиальных инфекций, мониторингования структуры патогенов и их антибиотикорезистентности.

Очень мало работ посвящено теме изучения инфекции дыхательных путей у пациентов со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, ассоциированных с ХОБЛ. В отечественной литературе публикации по данной тематике не найдены. Некоторые зарубежные авторы предлагают во время лечения респираторной инфекции у больных раком лёгкого использовать информацию об инфекции в дыхательных путях у относительно здоровых людей. Таким образом, данные о респираторной инфекции этой категории пациентов противоречивы, нет общепринятых методик забора материала из дыхательных путей для микробиологического исследования.

Рекомендации по профилактике и лечению инфекционных осложнений у пациентов со злокачественными опухолями лёгких, особенно, в сочетании с ХОБЛ спорны и не могут полностью отвечать современным требованиям.

В настоящее время актуальным является разработка новых алгоритмов выявления клинически значимых микроорганизмов в дыхательных путях у данной категории больных. Эти исследования позволят назначать адекватную стартовую антибактериальную терапию для профилактики и лечения респираторной инфекции, что, в свою очередь, позволит снизить риск селекции и контролировать распространенность штаммов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью.

**Цель исследования** - изучение достоверности данных микробиологического исследования содержимого респираторного тракта у больных со злокачественными опухолями лёгких в зависимости от технологии забора материала различными способами.

### **Задачи исследования:**

1. Провести сравнительный анализ стандартных методов выделения микроорганизмов из отделяемого верхних и нижних дыхательных путей (мазки из зева, мокрота) с результатами инструментальных методов («защищённой» щёточной биопсии и бронхиального аспирата / лаважа) у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, в сочетании с хронической обструктивной болезнью лёгких.
2. Изучить виды микроорганизмов на различных уровнях (биотопах) респираторного тракта у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, ассоциированных с хронической обструктивной болезнью лёгких.
3. На основании полученных результатов разработать оптимальный алгоритм микробиологического исследования респираторного тракта у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, ассоциированных с хронической обструктивной болезнью лёгких.

### **Научная новизна исследования**

Установлено, что представление о характере микрофлоры в нижних дыхательных путях у больных со злокачественными опухолями лёгких можно получить только при комплексном бактериологическом исследовании мазка из зева, мокроты, бронхиального аспирата / лаважа и материала «защищённой» щёточной биопсии.

Изучение спектра возбудителей бронхитов у больных со злокачественными опухолями лёгких показало, что в верхних дыхательных путях преобладают грибы рода *Candida*, в нижних дыхательных путях - преимущественно выделяются грамотрицательные условно - патогенные микроорганизмы родов: *Citrobacter*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Burkholderia*. Это подтверждает необходимость применения современных инвазивных методик получения материала - бронхиальный аспират / лаваж и «защищённую» щёточную биопсию.

Выявлено, что микробная нагрузка, т.е. количество штаммов клинически значимых микроорганизмов в нижних дыхательных путях у больных со злокачественными новообразованиями в лёгких, сочетанных с хронической обструктивной болезнью лёгких, гораздо выше, чем у больных раком лёгкого.

Определено, что показатели микробиоты дыхательных путей у I и II группы пациентов имеют достоверные статистические различия среди грамотрицательных микроорганизмов по результатам мазков из зева, образцов мокроты и бронхиального аспирата / лаважа, грамположительных микроорганизмов - в материале мокроты.

Разработан алгоритм микробиологического исследования респираторного тракта у больных со злокачественными опухолями лёгких, включающий: мазки из зева, забор мокроты, бронхиального аспирата / лаважа и «защищённую» щёточную биопсию.

Подробное исследование микрофлоры дыхательных путей у больных со злокачественными опухолями лёгких позволяет назначить эффективную предоперационную противомикробную терапию и снизить количество инфекционных осложнений лёгких.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Определены наиболее информативные биологические материалы и эффективные методы для диагностики возбудителей респираторной инфекции у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, ассоциированных с хронической обструктивной болезнью лёгких.

Выявлены микроорганизмы, наиболее часто колонизирующие дыхательные пути у больных со злокачественными опухолями лёгких, и определен спектр их чувствительности к применяемым антимикробным препаратам.

Важным результатом работы является возможность создания, с позиции доказательной медицины, обязательного алгоритма обследования дыхательных путей больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, сочетанных с хронической обструктивной болезнью лёгких. Это позволит повысить эффективность выделения условно - патогенных микроорганизмов с целью проведения эффективной противомикробной терапии респираторной инфекции до начала специального противоопухолевого лечения.

Полученные результаты внедрены и используются в работе торакального отделения «Московской Городской онкологической больницы № 62 Департамента здравоохранения города Москвы». У исследуемых больных за 5 лет удалось снизить количество инфекционных послеоперационных осложнений лёгких с 54,5% до 26%, при этом пребывание пациентов в стационаре сократилось вдвое (от 44 до 24 койко - дней). Результаты исследований внедрены и используются в работе «Онкологического клинического диспансера №1 Департамента здравоохранения города Москвы».

### **Методология и методы исследования**

Методология работы спланирована соответственно поставленной цели. Предметом исследования стало создание алгоритма исследования микрофлоры дыхательных путей у больных со злокачественными новообразованиями в лёгких при помощи неинвазивных методов (мазки из зева и отделяемая больными мокрота) и современных инвазивных методов (бронхиальный аспират / лаваж, «защищённая» щёточная биопсия).

Анализ научной литературы, посвященной данной проблеме, проведен с использованием формально - логических методов исследования.

Планирование и проведение исследований, направленных на решение поставленных задач, проводилось на основе общенаучных и специфических методов.

### **Методология и методы исследования**

Объекты исследования. Объектом исследования явилась микрофлора дыхательных путей 100 пациентов МГОб № 62, имеющих предварительный

диагноз - злокачественная опухоль лёгкого. После полного обследования нами выделено 3 группы больных с существенно различающимися вариантами основного заболевания.

I группа - больные со злокачественными опухолями лёгких - 52 пациента (52%) из 100. Мужчин 30 (58%), женщин - 22 (42%), возраст от 30 лет до 86 лет. Чаще встречались больные с центральным раком лёгкого - 23 (44%) из 52, у 18 пациентов (35%) из 52 диагностирован периферический рак лёгкого. Преобладала III стадия развития опухоли - 20 больных (49%) из 41 и IV стадия - 13 (32%) из 41 (TNM классификация, 2009г.). У остальной части пациентов этой группы - 6 (12%) из 52, опухоли лёгких оказались метастазами рака верхних и нижних отделов пищеварительного тракта. А у 5 больных (10%) из 52 рак лёгкого сочетался с хроническим лимфолейкозом (1 случай), раком молочной железы (1 случай), раком почки (1 случай), раком гортаноглотки (1 случай), базалиомой кожи (1 случай) и раком предстательной железы (1 случай).

II группа - больные со злокачественными опухолями лёгких в сочетании с ХОБЛ - 23 (23%) из 100. Мужчин - 19 (83%) из 23, женщин - 4 (17%) из 23, возраст от 51 года до 70 лет. Сочетание центрального рака лёгкого и ХОБЛ выявлено у 15 пациентов (65%) из 23, у остальных подтверждены периферические злокачественные опухоли лёгких 8 (35%) из 23. Преобладала III стадия развития опухоли - 9 (39%) из 23, реже встречалась I стадия - 6 (26%) из 23. У пациентов с центральными опухолями лёгких преобладала I стадия ХОБЛ - 7 (47%) из 15, а при периферических опухолях лёгких II стадия ХОБЛ - 4 (50%) из 8.

III группа - больные без злокачественных новообразований в лёгких - 25 (25%) из 100. Мужчин - 17 (68%), женщин - 8 (32%), возраст от 49 - 74 лет. У 10 больных (40%) из 25 обнаружены злокачественные опухоли внелёгочной локализации: рак гортани, рак верхних отделов желудочно - кишечного тракта, рак молочной железы, лимфогранулематоз. Ещё у 10 больных (40%) из 25 клиническая картина опухоли оказалась следствием инфекционных заболеваний лёгких: пневмонии - 6 (60%) из 10, абсцессов лёгкого - 3 (30%) из 10, посттуберкулезных изменений - 1 (10%) из 10. У оставшихся 5 пациентов этой группы (по 4% из 25) после хирургического лечения выявлены: цирроз лёгкого (1 случай), пневмофиброз (1 случай), саркоидоз лёгких (1 случай), организовавшаяся гематома (1 случай), субплевральный лимфатический узел с гиалинозом и кальцинозом (1 случай).  
Микробиологические методы исследования.

Культуральному бактериологическому исследованию подвергнуто 500 проб материалов.

1. Каждому пациенту производили мазок из зева стерильным зондом - тампоном (100 образцов).

2. В стерильный контейнер с крышкой выполнен забор утренней мокроты, скопившейся в лёгких в течение ночи. Если мокрота отделялась плохо, то кашель у больного провоцировали ингаляцией распылённого ультразвуком 3% раствора хлористого натрия (100 образцов).

3. Всем пациентам проведена бронхоскопия с детальным осмотром трахеобронхиального дерева. После чего из очагов воспаления нижних дыхательных путей была произведена «защищённая» щёточная биопсия (200 образцов). Если явных изменений слизистой оболочки бронхов не было, забор материала производился в месте наибольшего скопления бронхиального секрета. Благодаря тому, что щётка одноразовая, стерильная и находится в оплётке во время получения материала, максимально исключается контаминация в канале бронхоскопа. Использовалась видеосистема с бронховидеоскопом - EVIS EXERA II CLV - 180 («Olympus», Япония) и инструменты фирмы («Olympus», Япония). Материал из щётки помещали в жидкую среду сохранения № 1 - сердечно - мозговой бульон («Becton Dickinson», США) (100 образцов). После чего брали другую стерильную щётку и повторно производили забор материал и помещали в жидкую среду № 2 - триптиказо - соевый бульон («Becton Dickinson», США) (100 образцов). В среде № 1 жизнеспособность микроорганизмов сохранялась хуже, в ней было выявлено 25 штаммов условно - патогенных микроорганизмов, а с помощью среды № 2 удалось выделить 77 штаммов условно - патогенных микроорганизмов. Не было ни одного наблюдения, чтобы у одного и того же пациента штаммы условно - патогенных микроорганизмов были найдены в среде № 1, а в среде № 2 нет, поэтому в дальнейшем для сравнения результатов методов забора материала использованы данные среды № 2.

4. Каждому больному выполнена бронхоскопия с аспирацией содержимого бронхов в стерильную стеклянную ловушку - накопитель («Unomedical», Дания) (бронхиальный аспират). Если вязкая консистенция бронхиального секрета мешала его прохождению через канал бронхоскопа, вводили 9 мл физиологического раствора с последующим забором его в стерильную пробирку (бронхиальный лаваж).

Правильно собранную мокроту и бронхиальный аспират окрашивали по Граму в лабораторной медицинской центрифуге SLID STAINER-CYTOCENTRIFUGE AEROSPRAY 7320 GRAM («WESCOR», США). После чего проводили микроскопию для определения этиологической причины воспалительного процесса в дыхательных путях.

Изучение морфологии колоний и клеток выполнено с помощью биологического иммерсионного бинокулярного микроскопа Axioskop 40 («Carl Zeiss», Германия) и биологического стереоскопического бинокулярного микроскопа Stemi 2000 - C («Carl Zeiss», Германия).

Для оценки качества доставленных образцов применялся метод - Murray / Washington, согласно которому - при наличии в мазке мокроты более 10 эпителиальных клеток в поле зрения и менее 25 полиморфноядерных лейкоцитов высока вероятность контаминации образца содержимым полости рта (слюной). Таким образом, было забраковано 7 образцов мокроты, в дальнейшем эти пациенты не вошли в состав исследуемых групп.



Посев материала проводили в соответствии с действующими нормативными документами на следующие питательные среды: кровяной агар с добавлением 5 - 10% стерильной дефибринированной крови барана («ЭКОлаб», Россия), шоколадный агар («BioMerieux», Франция), маннитно - солевой агар («HiMedia», Индия), среду Эндо («Becton Dickinson», США), среду Сабуро («Becton Dickinson», США). Посевы инкубировали в атмосферных условиях при 37 °С, посевы на питательную среду Сабуро инкубировали при температуре 30°С, в течение 18 - 24 часов. Чашки Петри с 5% кровяным агаром и шоколадным агаром инкубировали в CO<sub>2</sub> - инкубаторе (5% - 10% CO<sub>2</sub>). При отсутствии роста чашки с посевами оставляли на вторые сутки. После инкубации просматривали чашки и подсчитывали каждый вид микроорганизмов. Количество микроорганизмов определяли в максимальном разведении, в котором ещё удалось обнаружить данный вид бактерий. Изоляты микроорганизмов мазков из зева и полученные при свободном откашливании, расценивали как этиологически значимые в концентрации:  $\geq 10^{6-7}$  КОЕ/мл, а полученные инвазивным методом (бронхиальный аспират / лаваж) - в концентрации:  $\geq 10^4$  КОЕ/мл. Для материала, полученного при «защищённой» щёточной биопсии критическим считали количество микроорганизмов более  $10^3$  КОЕ/мл.

Для идентификации микроорганизмов и определения чувствительности к противомикробным препаратам использовали автоматический бактериологический анализатор «Vitek 2» («BioMerieux», Франция). Во время приготовления суспензии для идентификации производили стандартизацию инокулума, которая выполнялась при помощи автоматического денситометра DENSICHEK, входящего в комплект тест - системы «Vitek 2». В пробирку со стерильным солевым раствором (2,0 мл), который тоже входит в комплект, вносили такое количество чистой культуры, чтобы степень мутности полученной взвеси соответствовала 0,5 стандарта мутности по Мак Фарланду (для грибов рода *Candida* 2,0 - 3,0 стандарта мутности по Мак Фарланду). Полученную суспензию переносили в карту с лунками и затем устанавливали в кассету и в вакуумную камеру для заполнения карт. Среднее время получения результата идентификации 5 – 6 часов. Благодаря программному обеспечению, система автоматически отслеживает разнообразные механизмы резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам, среднее время получения результата 7 – 8 часов.

Методы клинического обследования больных со злокачественными опухолями лёгких.

1. Рентгенологическое исследование. Каждому больному выполнена рентгенография грудной клетки в общепринятых проекциях (аппарат «Prestige SI», США).

2. Компьютерная томография органов грудной клетки проведена всем пациентам с злокачественными опухолями лёгких, аппарат («Toshiba Aquilion Prime TSX-302 A», Япония).

3. Ультразвуковое исследование печени, почек, надключичных лимфатических узлов выполнено у всех больных со злокачественными

опухолями лёгких, другие органы исследовались по показаниям, аппарат («Toshiba Aplio 500», Япония).

4. Спирометрия проведена аппаратом («Microspiro HI - 601», Япония). Для диагностики ХОБЛ оценивались показатели объёма форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ<sub>1</sub>), так же соотношение ОФВ<sub>1</sub> к форсированной жизненной ёмкости лёгких. Проведен бронходилатационный тест - повторное исследование функции внешнего дыхания через 15 мин после вдыхания четырех доз сальбутамола по 100 мкг., прирост ОФВ<sub>1</sub> менее 12% был характерен для больных хронической обструктивной болезнью лёгких.

5. Эндоскопическое исследование. Каждому пациенту выполняли бронхоскопию, при подтверждении наличия злокачественной опухоли лёгких - проводили гастроскопию для исключения первичного очага в желудке и с целью исключения воспалительных изменений слизистой оболочки перед проведением противоопухолевого лечения. Кроме того, при наличии у больного периферических образований в лёгких, обязательно проводили колоноскопию для исключения первичного очага в толстой кишке. Использовалась эндоскопическая аппаратура фирмы («Olympus», Япония).

6. Гистологическое и цитологическое исследование. Для верификации диагноза у пациентов с центральным раком лёгкого и с централизацией периферического рака лёгкого, во время бронхоскопии производили биопсию. Браш - биопсию, также во время бронхоскопии, выполняли при периферических опухолях лёгких или по показаниям - в других ситуациях.

Статистический метод. Статистический анализ выполняли на персональных компьютерах в среде электронных таблиц Excel, входящих в пакеты MicroSoft Office и с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 SPSS 15.0.

В процессе статистической обработки данных использовались методы описательной статистики, корреляционный анализ, частотный анализ (метод Shi-Square Tests -  $\chi^2$ ). Критерий Колмогорова - Смирнова использовался для проверки нормального характера распределения. Для количественных признаков в группах исследования определяли: минимальное и максимальное значения, медиану. Сравнение между группами проводилось с помощью непараметрического критерия Mann - Whitney. Статистически значимыми считали различия при  $p \leq 0,05$ .

Для характеристики информативности (достоверности) диагностических методов исследования служили следующие параметры: чувствительность (Se - sensitivity), специфичность (Sp - specificity), диагностическая точность (Ac - accuracy), прогностическая ценность положительного результата (PVP - positive predictive value), прогностическая ценность отрицательного результата (PVN - negative predictive value).

#### **Личное участие автора в получении результатов**

Участие автора заключалось в получении результатов изложенных в диссертационной работе. Автором лично проведен подбор пациентов и

взятие материала при помощи неинвазивных методов (мазки из зева, забор мокроты). Автором проведены все бронхоскопии с использованием инвазивных методов забора материала (бронхиальный аспират / лаваж и «защищённая» щёточная биопсия, а также - последующая передача материала в микробиологическую лабораторию). Микробиологическую часть исследования автор выполнял совместно с врачом микробиологом - М.М. Зубковым. На постаналитическом этапе исследования - проведение анализа и систематизации полученных результатов.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Показатели микробиоты дыхательных путей у больных со злокачественными опухолями лёгких и у больных раком лёгкого, сочетанного с хронической обструктивной болезнью лёгких, имеют достоверные различия.
2. Традиционные неинвазивные методы забора материала для микробиологического исследования респираторного тракта при раке лёгкого не отвечают современным запросам онкологической клиники.
3. Достоверные данные о микрофлоре дыхательных путей с целью адекватного профилактического и лечебного применения противомикробных препаратов могут быть получены только при комплексном исследовании неинвазивными методами (мазки из зева, мокрота) и инвазивными методами (бронхиальный аспират / лаваж, «защищённая» щёточная биопсия).

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

О достоверности полученных результатов работы свидетельствуют достаточный объём выборки анализируемых образцов (500 образцов материалов из дыхательных путей исследуемых больных). Выделено 338 штаммов условно - патогенных микроорганизмов. Комплексное исследование и статистический анализ позволили получить данные, сопоставимые с данными литературы, что также свидетельствует о достоверности полученных результатов.

Диссертация апробирована на заседании секции Учёного Совета ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, протокол № 1, от 14 января 2016 г.).

Результаты исследований были представлены и обсуждены на IX Научно - практической конференции Департамента здравоохранения города Москвы «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений» (Москва, 2011г.); X Научно-практической конференции «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений» (Москва, 2012 г.); на VIII Съезде онкологов и радиологов стран Союза Независимых Государств и Евразии (Казань, 2014г.); на Заседании секции медицинской и фармацевтической микробиологии Московского отделения Всероссийского научно - практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (2016г., Москва).

## Публикации

По теме диссертации имеется 7 печатных работ, в том числе - 3 в рецензируемых изданиях, 3 - в сборниках материалов конференций, 1- в научном сборнике.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 180 страницах и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, двух глав результатов собственных исследований и их обсуждений, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, приложений, списка использованных литературных источников. Диссертация иллюстрирована 39 таблицами и 58 рисунками. Список литературы содержит 283 работы, в том числе 154 - зарубежных и 129 - отечественных публикаций.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Микробиота дыхательных путей у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, ассоциированных с ХОБЛ

После микробиологического исследования верхних и нижних дыхательных путей всех 100 больных выявлено 338 штаммов условно - патогенных микроорганизмов. В I и во II группе пациентов со злокачественными новообразованиями в лёгких микрофлора на первый взгляд была примерно одинаковой, всего в этих двух группах обнаружено 223 штамма условно - патогенных микроорганизмов. В большем количестве случаев (106 штаммов) присутствовали грамотрицательные микроорганизмы: *Burkholderia cepacia*  $10^{5-7}$  КОЕ/мл (28 штаммов - 26%), *Enterobacter spp.*  $10^{3-7}$  КОЕ/мл (19 штаммов - 18%), *Klebsiella pneumoniae*  $10^{3-5}$  КОЕ/мл (16 штаммов - 15%), *Escherichia coli*  $10^{4-5}$  КОЕ/мл (13 штаммов - 12%), *Pseudomonas aeruginosa*  $10^{5-7}$  КОЕ/мл (13 штаммов - 12%), *Acinetobacter spp.*  $10^{4,7}$  КОЕ/мл (13 штаммов - 12%), *Serratia marcescens*  $10^{5,7}$  КОЕ/мл (3 штамма - 3%) и *Citrobacter spp.*  $10^4$  КОЕ/мл (1штамм - 1%) (рисунок 1). На втором месте по количеству штаммов (78) выявлены грибы рода *Candida* : *Candida albicans*  $10^{3-7}$  КОЕ/мл (66 штаммов - 85%), *Candida sake*  $10^4$  КОЕ/мл (4 штамма - 5%), *Candida qlabrata*  $10^{3,7}$  КОЕ/мл (4 штамма - 5%), *Candida tropicalis*  $10^{3,7}$  КОЕ/мл (3 штамма - 4%), *Candida krusei*  $10^4$  КОЕ/мл (1 штамм - 1%) (рисунок 2). Третье место заняли грамположительные микроорганизмы, их было всего 39 штаммов: *Staphylococcus aureus*  $10^{4-7}$  КОЕ/мл - 15 штаммов (38%), *Streptococcus pyogenes*  $10^{4-7}$  КОЕ/мл - 14 штаммов (36%), в единичных случаях обнаружены *Staphylococcus epidermidis*  $10^{5,7}$  КОЕ/мл - 5 штаммов (13%) и *Streptococcus pneumoniae*  $10^6$  КОЕ/мл - 5 штаммов (13%) (рисунок 3).

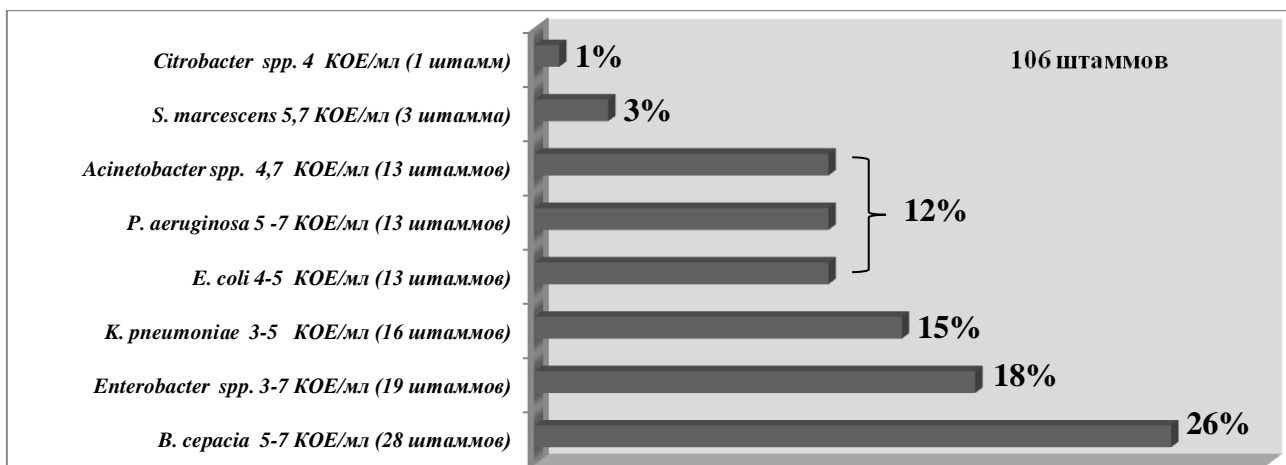


Рисунок 1 - Грамотрицательные микроорганизмы, выделенные из дыхательных путей у I и II группы пациентов

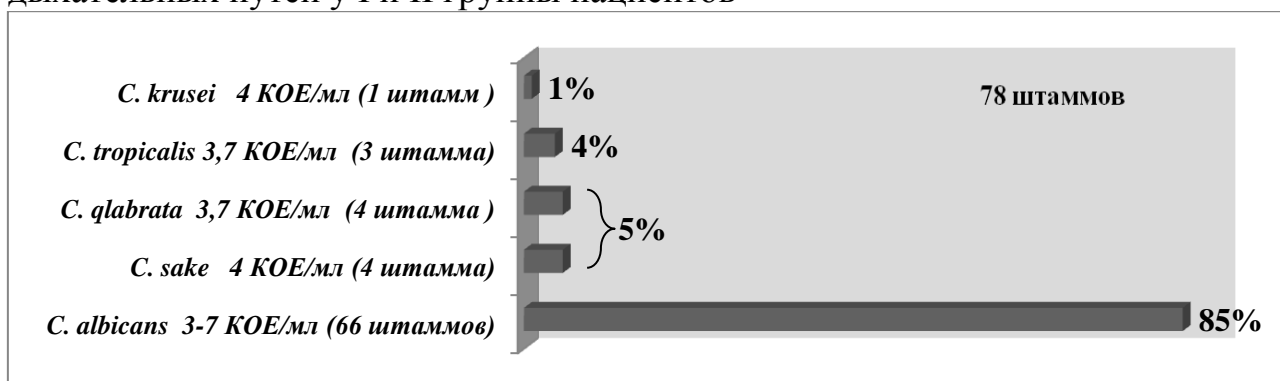


Рисунок 2- Грибы рода *Candida*, выделенные из дыхательных путей у I и II группы больных

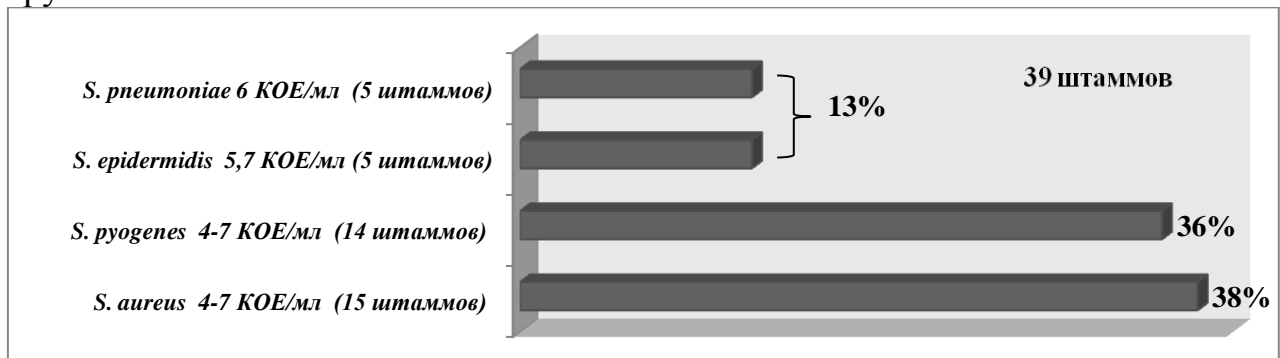


Рисунок 3 - Грамположительные микроорганизмы, выделенные из дыхательных путей у I и II группы больных

Таким образом, распределение микроорганизмов в дыхательных путях у больных со злокачественными опухолями лёгких показало, что преобладают грамотрицательные микроорганизмы (48%), достаточно часто в материале встречались грибы рода *Candida* (35%), гораздо реже мы видели грамположительные микроорганизмы (17%).

Во время последующего анализа результатов бактериологического исследования дыхательных путей больных со злокачественными опухолями лёгких выяснилось, что среди ведущих условно - патогенных микроорганизмов в I группе отсутствовали - *P. aeruginosa* и *Acinetobacter spp.*, а во II группе *S. epidermidis* и *S. pneumoniae*. Однако эти

микрорганизмы с единичным количеством штаммов присутствовали среди прочих.

Существенное различие в I и во II группе больных было по количественному составу. Например, у 52 пациентов, имеющих только злокачественные опухоли лёгких (I группа), зафиксировано 108 штаммов условно - патогенных микрорганизмов в дыхательных путях. При ассоциации рака лёгкого с ХОБЛ (II группа), у 23 больных зафиксировано 115 штаммов условно - патогенных микрорганизмов в дыхательных путях. Причём, у 22 пациентов (96%) из 23 ХОБЛ при поступлении в нашу клинику была в стадии ремиссии, и лишь у 1 пациентки (4%) - в стадии обострения.

Распределение условно - патогенных микрорганизмов в этих группах было следующее: если больные страдали только злокачественными опухолями лёгких (I группа), на первом месте выявлялись грибы рода *Candida* – 47 штаммов (43%) из 108, на втором месте были грамотрицательные микрорганизмы – 41 штамм (38%) из 108, и на третьем месте грамположительные микрорганизмы - 20 штаммов (18%) из 108. В случаях ассоциации злокачественного процесса в лёгких с ХОБЛ (II группа) на первом месте - 65 штаммов (57%) из 115 присутствовали грамотрицательные микрорганизмы, грибы рода *Candida* были на втором, что составило - 27% (31 штамм из 115) и на последнем месте оказались грамположительные микрорганизмы - 19 штаммов (17%) из 115.

Анализ микробных ассоциаций в дыхательных путях больных со злокачественными опухолями лёгких показал, что у 23 пациентов (44% из 52) I группы выявлено 16 микробных ассоциаций условно - патогенных микрорганизмов из них: *S. albicans* присутствовала в 13 (81%) из 16, грамотрицательные микрорганизмы - 8 (50%) из 16, грамположительные микрорганизмы - 8 (50%) из 16. Чаще всего (4 случая - 17% из 23) встречались *Candida spp.* + *S. pyogenes*. По 2 случая по 9% из 23: (*Candida spp.* + *B. cepacia*), (*Candida spp.* + *Enterobacter spp.*), (*Candida spp.* + *K. pneumoniae*), (*Candida spp.* + *S. pyogenes* + *Enterobacter spp.*). В единичных случаях по 4% из 23: (*Candida spp.* + *Acinetobacter spp.*), (*Candida spp.* + *S. aureus*), (*Candida spp.* + *E. coli*), (*Candida spp.* + *Enterobacter spp.* + *S. epidermidis*), (*Candida spp.* + *E. coli* + *S. aureus*), (*Candida spp.* + *K. pneumoniae* + *Enterobacter spp.*), (*Candida spp.* + *S. epidermidis* + *S. aureus*) и (*Candida spp.* + *E. coli* + *B. cepacia* + *P. aeruginosa*). В трёх ассоциациях (18%) грибы рода *Candida* отсутствовали: (*E. coli* + *B. cepacia*), (*S. pyogenes* + *E. coli* + *S. pneumoniae*), (*S. epidermidis* + *P. aeruginosa* + *S. pneumoniae*).

У 7 больных (13% из 52) I группы в дыхательных путях встречалась монокультура: *S. viridans* - 4 пациента, *P. aeruginosa* - 1 пациент, *E. coli* - 1 пациент, *S. albicans* - 1 пациент.

В дыхательных путях у 16 пациентов II группы (69,5% из 23) выявлены 12 ассоциаций условно - патогенных микрорганизмов: грибы рода *Candida* присутствовали в 8 микробных ассоциациях (67%) из 12, грамотрицательные микрорганизмы - в 11 ассоциациях (92%) из 12, грамположительные микрорганизмы - в 5 ассоциациях (42%) из 12. В 3 случаях по 19% из 16

выявлялись (*S. aureus* + *Acinetobacter spp.*), по 2 случая по 12,5% из 16: (*Candida spp.* + *B. cepacia*) и (*Candida spp.* + *Enterobacter spp.* + *E. coli* + *S. aureus* + *B. cepacia*). Остальные ассоциации микроорганизмов обнаружены в единичных случаях по 6% из 16: (*Candida spp.* + *S. pyogenes*), (*Candida spp.* + *Acinetobacter spp.*), (*Candida spp.* + *B. cepacia*), (*Candida spp.* + *P. aeruginosa*), (*Enterobacter spp.* + *S. aureus* + *S. marcescens*), (*Enterobacter spp.* + *S. marcescens* + *P. aeruginosa*), (*Candida spp.* + *Enterobacter spp.* + *S. aureus*), (*Candida spp.* + *Acinetobacter spp.* + *B. cepacia*), (*Candida spp.* + *K. pneumoniae* + *Enterobacter spp.*), (*E. coli* + *K. pneumoniae* + *S. aureus*).

Во II группе в дыхательных путях были выявлены следующие монокультуры: *C. albicans* - 1 пациент, *E. coli* - 1 пациент, *B. cepacia* - 1 пациент, *S. viridans* - 1 пациент.

Таким образом, количество ассоциаций условно - патогенных микроорганизмов в I группе больных было больше, зато во II группе встречались ассоциации с одновременно выделенными пятью штаммами различных клинически значимых микроорганизмов.

#### Клинически незначимые микроорганизмы I и II группы

В I группе *S. viridans* выявлен - у 39 больных (75%) из 52, *N. sica* - у 22 больных (42%) из 52. Монокультура *S. viridans* встречалась - у 4 больных (10%) из 39, у 22 больных (56%) из 39 *S. viridans* выделен в ассоциации с *N. sica*, а у 13 пациентов (33%) из 39 в ассоциации с условно - патогенными микроорганизмами. Во II группе *S. viridans* выявлен у 9 больных (39 %) из 23, *N. sica* у 4 больных (17%) из 23. Монокультура *S. viridans* встречалась у 1 пациента (11%) из 9, у 3 больных (33%) из 9 *S. viridans* выделен в ассоциации с *N. sica*, а у 5 пациентов (56%) из 9 в ассоциации с условно - патогенными микроорганизмами. *N. sica* у 1 пациента (25%) из 4 выявлена в ассоциации с условно - патогенными микроорганизмами, а у 3 (75%) из 4 в ассоциации клинически незначимых микроорганизмов.

В III группе пациентов, в материале, полученном из дыхательных путей, обнаружено всего 115 штаммов условно - патогенных микроорганизмов, преобладали грамотрицательные микроорганизмы - 54 штамма (47%) из 115. Основным отличием микробиоты дыхательных путей этой группы было наличие на первом месте среди ведущих микроорганизмов - *S. aureus*  $10^{3-6}$  КОЕ/мл 23 штамма (20%) из 115. На втором месте по частоте встречаемости оказались: *C. albicans*  $10^{5-7}$  КОЕ/мл (19 штаммов - 16%) и *B. cepacia*  $10^4$  КОЕ/мл (14 штаммов - 12%) из 115. *K. pneumoniae*  $10^{3-5,7}$  КОЕ/мл и *Acinetobacter spp.*  $10^{3-7}$  КОЕ/мл также выявлены в одинаковом количестве случаев - по 10 штаммов (по 9%) из 115.

Немного реже встречалась *P. aeruginosa*  $10^5$  КОЕ/мл - 9 штаммов (8%) из 115. *C. tropicalis*  $10^{3,5}$  КОЕ/мл и *Enterobacter spp.*  $10^{3-7}$  КОЕ/мл - по 6 штаммов (по 5%), *S. pyogenes*  $10^{6-7}$  КОЕ/мл - 5 штаммов (4%), *C. sake*  $10^{3,7}$  КОЕ/мл - 4 штамма - (3%), *E. coli*  $10^{3,5}$  КОЕ/мл - 3 штамма (3%). По 2 штамма (по 2%): *C. qlabrata*  $10^{3,7}$  КОЕ/мл, *S. epidermidis*  $10^7$  КОЕ/мл. В единичных случаях (по 1 штамму - по 1%): *S. marcescens*  $10^7$  КОЕ/мл, *Citrobacter spp.*  $10^4$  КОЕ/мл.

Во время сравнительного статистического анализа показателей микробиоты дыхательных путей у I и II группы больных были выявлены достоверные различия. Среди грамположительных условно - патогенных микроорганизмов различия выявлены в образцах мокроты  $p = 0,002$  ( $p < 0,05$ ). При других методах забора материала достоверных различий не оказалось: мазки из зева -  $p = 0,258$  ( $p > 0,05$ ), материал бронхиального аспирата / лаважа -  $p = 0,553$  ( $p > 0,05$ ), материал «защищённой» щёточной биопсии -  $p = 0,724$  ( $p > 0,05$ ). Показатели выявляемости грибов рода *Candida* в I и во II группе не имел достоверных различий в зависимости от метода забора материала из дыхательных путей: в образцах мазков из зева -  $p = 0,727$  ( $p > 0,05$ ), в материале мокроты -  $p = 0,936$  ( $p > 0,05$ ), материал бронхиального аспирата / лаважа -  $p = 0,969$  ( $p > 0,05$ ), в образцах «защищённой» щёточной биопсии -  $p = 0,203$  ( $p > 0,05$ ). Больше всего получилось выявить достоверных различий в зависимости от метода забора материала среди грамотрицательных условно - патогенных микроорганизмов: образцы мазков из зева -  $p = 0,06$  ( $p > 0,05$ ), материал мокроты  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), образцы бронхиального аспирата / лаважа -  $p = 0,003$  ( $p < 0,05$ ), материал «защищённой» щёточной биопсии  $p = 0,007$  ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, подтверждены достоверные статистические различия в I и во II группе больных по выявлению грамположительных микроорганизмов в мокроте и грамотрицательных микроорганизмов в мокроте, бронхиальном аспирате / лаваже, в материале «защищённой» щёточной биопсии. Во II группе мы увидели гораздо большую микробную нагрузку в респираторном тракте - преобладали грамотрицательные микроорганизмы.

### **Результаты эндоскопического исследования воспалительных изменений трахеобронхиального дерева у больных со злокачественными опухолями лёгких**

Во время проведения бронхоскопии у 40 пациентов с центральными опухолями лёгких выявлены следующие формы бронхитов: катаральный бронхит встречался - у 8 (20%), атрофический бронхит первично - воспалительной формы - 4 (10%), атрофический бронхит - 28 (70%).

У 29 пациентов с периферическими опухолями лёгких преобладал атрофический бронхит первично - воспалительной формы 17 (59%), в остальных 12 случаях (41%) обнаружен катаральный бронхит. При наличии метастазов в лёгких, во всех случаях, отмечалась эндоскопическая картина атрофического бронхита. Необходимо отметить, что характерных эндоскопических признаков изменений слизистой оболочки дыхательных путей в зависимости от выявления определенного вида условно - патогенных микроорганизмов не было.



### Сравнительный анализ современных методов выделения микроорганизмов из дыхательных путей

В дыхательных путях больных со злокачественными опухолями лёгких (I + II группы) зафиксировано 223 штамма условно - патогенных микроорганизмов в дыхательных путях (рисунок 4). В мокроте - 75 штаммов (34%), в мазках из зева - 57 штаммов (26%). После выполнения бронхоскопии - в бронхиальном аспирате / лаваже микроорганизмы выявлялись реже - 49 штаммов (22%), в образцах, полученных при «защищённой» щёточной биопсии, ещё меньше 42 штамма (19%).

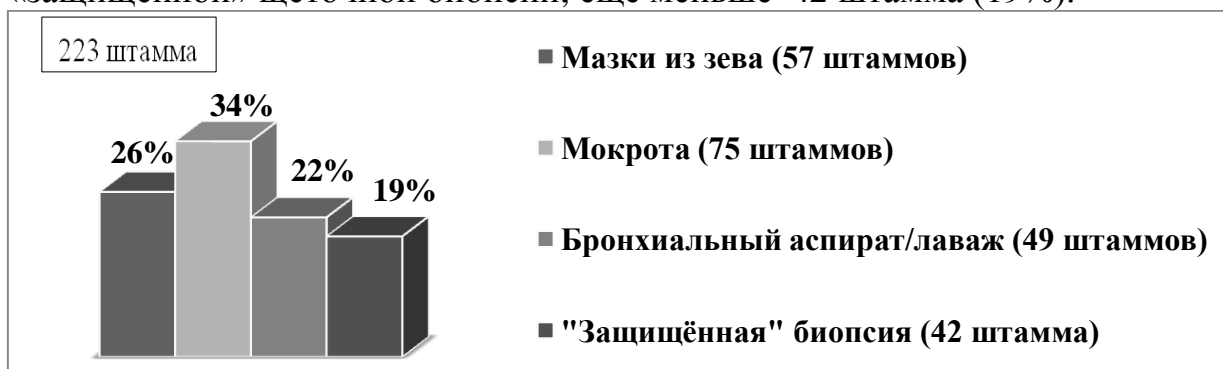


Рисунок 4 - Структура выявления микроорганизмов из дыхательных путей у больных со злокачественными опухолями лёгких при инвазивных и неинвазивных методах забора материала

Не подлежит сомнению ценность итогов углублённого бактериологического исследования для назначения профилактической и лечебной антимикробной терапии респираторной инфекции у обсуждаемой сложной категории больных. Мы подвергли анализу возможности каждого метода диагностики, с точки зрения, оптимального способа получения материала и максимальной достоверности при исследовании микрофлоры дыхательных путей у интересующих нас больных. Для достижения этой цели проведена оценка методов забора материала с позиции возможности выявления различных групп микроорганизмов: грамотрицательных, грамположительных и грибковых.

Оказалось, что грамположительные микроорганизмы и грибы рода *Candida* в преобладающем количестве случаев присутствуют в мазках из зева и в мокроте. После исследования материалов, полученных из нижних дыхательных путей изолированно, процент выявления идентичных, находящихся в глотке микроорганизмов, оказался существенно меньшим.

Грибы рода *Candida* у данной категории больных (I + II группы), обнаружены в количестве - 78 штаммов. Преобладало их присутствие в мокроте - 33 штамма (42%) и в мазках из зева - 27 штаммов (35%). Инвазивные методы показали гораздо меньшие результаты: в бронхиальном аспирате / лаваже - 14 штаммов (18%), а в образцах «защищённой» щёточной биопсии - 4 штамма (5%) (рисунок 5).

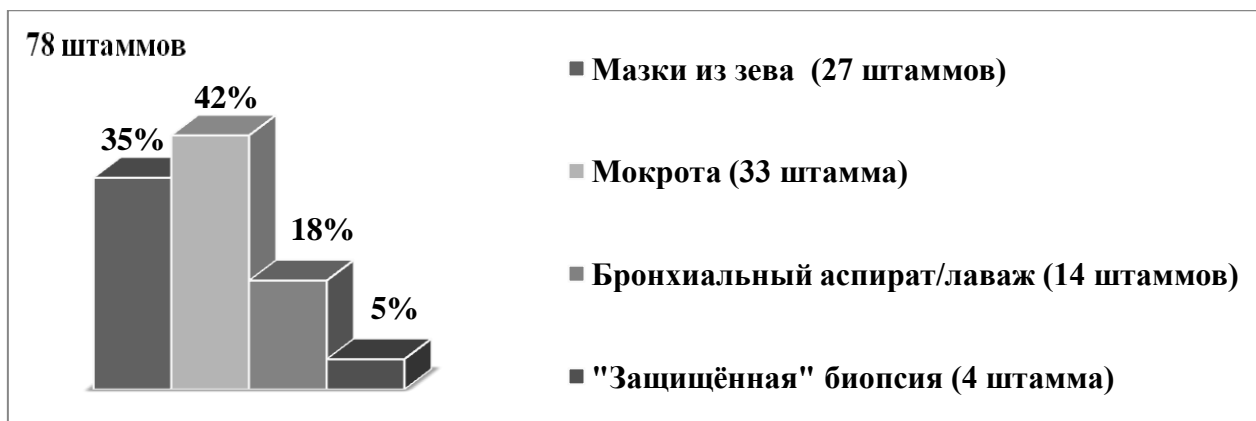


Рисунок 5 - Количество штаммов грибов рода *Candida*, выделенных из дыхательных путей больных со злокачественными опухолями лёгких

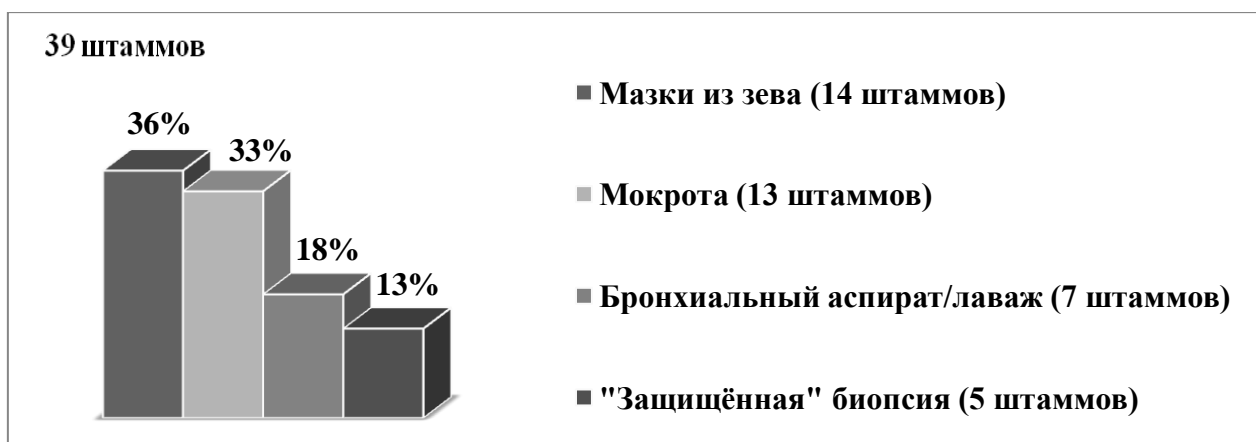


Рисунок 6 - Количество штаммов грамположительных микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей больных со злокачественными опухолями лёгких

Грамположительных микроорганизмов выделено 39 штаммов, преобладающее количество было в мазках из зева (14 штаммов - 36%) и в мокроте (13 штаммов - 33%). Показатели инвазивных методов забора материала оказались почти в два раза ниже: в бронхиальном аспирате / лаваже - 7 штаммов (18%), в образцах «защищённой» щёточной биопсии - 5 штаммов (13%) (рисунок 6).

Грамотрицательные микроорганизмы у больных со злокачественными опухолями лёгких были преобладающей группой, их выявлено всего 106 штаммов, важно отметить, в подавляющем количестве случаев эти микроорганизмы найдены в образцах инвазивных методов забора материала: бронхиальный аспират / лаваж - 28 штаммов (26%), «защищённая» щёточная биопсия - 42 штамма (40%). А при традиционных методах исследования показатели были гораздо ниже: в мазках из зева - 16 штаммов (15%), в мокроте - 20 штаммов (19%) (рисунок 7).

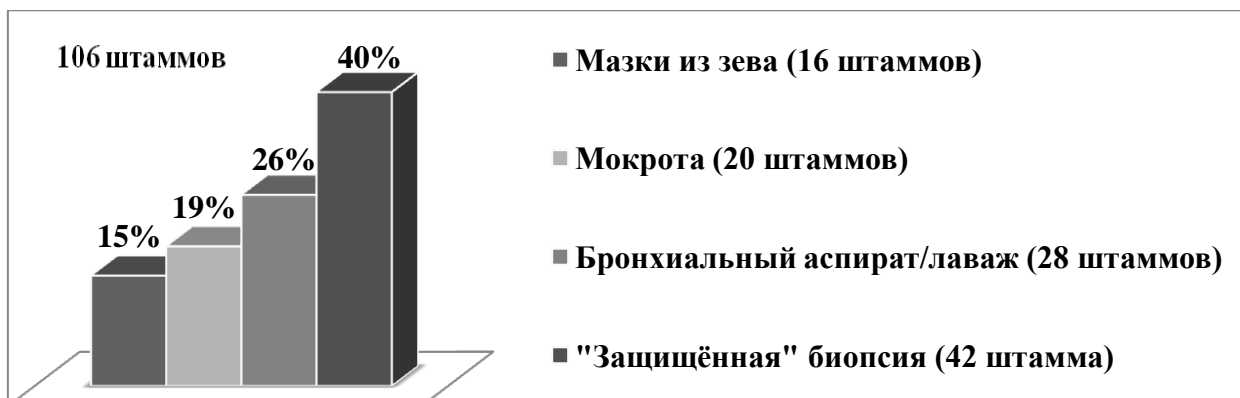


Рисунок 7 - Количество штаммов грамотрицательных микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей больных со злокачественными опухолями лёгких

Результаты исследования микрофлоры дыхательных путей всех групп больных (100 человек) показали, что при различных методах забора материала из дыхательных путей, количество штаммов условно - патогенных микроорганизмов обнаружено примерно в одинаковом количестве случаев: мазки из зева - 87 штаммов (26%) из 338, мокрота - 94 штамма (28%) из 338, бронхиальный аспират / лаваж 80 штаммов (24%) из 338, «защищённая» щёточная биопсия - 77 штаммов (23%) из 338.

Грамположительные микроорганизмы и грибы рода *Candida*, как и в группах больных со злокачественными опухолями лёгких, чаще выявлялись при неинвазивных методах взятия материала. В результате, у всех 100 пациентов общее количество грамположительных микроорганизмов было 69 штаммов, которые в 38% случаев (26 штаммов) выявлялись в верхних дыхательных путях в мазках из зева, в мокроте - 23 штамма (33%), в бронхиальном аспирате / лаваже - 12 штаммов (17%), в образцах «защищённой» щёточной биопсии - 8 штаммов (12%).

Во всех образцах, полученных от 100 пациентов, было найдено 109 штаммов грибов рода *Candida*. В мазках из зева эти микроорганизмы выявлялись в 34% случаев (37 штаммов), в мокроте - 39% (42 штамма), в бронхиальном аспирате / лаваже - 20 штаммов (18%), в образцах «защищённой» щёточной биопсии - 10 штаммов (9%).

Грамотрицательные микроорганизмы также были преобладающей группой (общее количество 160 штаммов) и опять в большинстве случаев выявлены в материале, полученном при помощи бронхоскопии: бронхиальный аспират / лаваж - 48 штаммов (30%), в образцах «защищённой» биопсии - 59 штаммов (37%). В мазках из зева эти микроорганизмы выявлялись реже - 24 штамма (15%) и в мокроте 29 штаммов (18%).

В результате нашей работы получилось, что грамположительные микроорганизмы и грибы рода *Candida* чаще встречаются в верхних дыхательных путях, а условно - патогенные грамотрицательные микроорганизмы зачастую можно выявить только при помощи забора материала непосредственно из бронхиального дерева методом

бронхиального аспирата / лаважа или при помощи «защищённой» щёточной биопсии.

Ещё необходимо отметить, что почти у одной трети из 100 пациентов условно - патогенные микроорганизмы были выявлены только одним из используемых нами методов забора материала, в то время как в других образцах их обнаружить не удалось (рисунок 8 а, 8 б). Например, у 13 пациентов только в мокроте было обнаружено 14 штаммов следующих микроорганизмов: *Enterobacter spp.* - 4 (28%), *S. epidermidis* - 2 (14%), *S. aureus* - 2 (14%), *S. marcescens* - 2 (14%), *S. pyogenes* - 2 (14%), *P. aeruginosa* - 1 (7%), *K. pneumoniae* - 1 (7%).

Ещё 5 штаммов микроорганизмов (у 4 человек) выявлены только при помощи «защищённой» щёточной биопсии: *S. pyogenes* - 2 штамма (40%), *S. epidermidis* - 1 (20%), *Enterobacter spp.* - 1 (20%), *P. aeruginosa* - 1 (20%).

Нами также зафиксировано, что у 10 больных 11 штаммов грамотрицательных микроорганизмов выявлены только в бронхиальном аспирате / лаваже: *V. ceracia* - 8 (73%), *P. aeruginosa* - 1 (9%), *S. marcescens* - 1 (9%), *E. coli* - 1 (9%).

В результате - 30 штаммов (9%) условно - патогенных микроорганизмов из 338 обнаружены благодаря только одному из методов выделения образцов из дыхательных путей (рисунок 8 а, 8 б). Это достаточно высокий показатель и, по нашему мнению, он заслуживает внимания в процессе оценки методов диагностики.

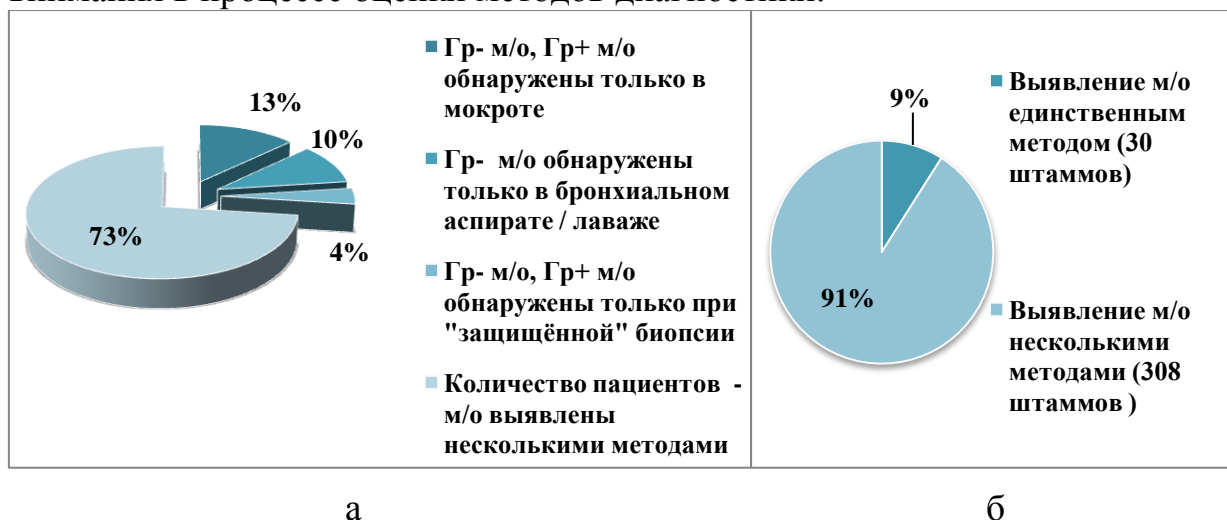


Рисунок 8 (а, б) - Структура выявления микроорганизмов при разных видах забора материала из дыхательных путей всех исследуемых пациентов

Примечание: «Гр - м/о» - грамотрицательные микроорганизмы  
«Гр + м/о» - грамположительные микроорганизмы

### Статистический анализ методов забора материала из дыхательных путей

Чтобы провести статистический анализ представленных нами методов забора материала из дыхательных путей и определить эффективность диагностического теста необходимо было выбрать группу сравнения, то есть «золотой» стандарт по выявлению условно - патогенных

микроорганизмов из нижних дыхательных путей. Наиболее точным методом, из использованных в нашей работе, мы сочли «защищённую» щёточную биопсию, которая позволяет получить материал непосредственно из бронхов в очаге воспаления, максимально исключив контаминацию в глотке.

По результатам работы получилось, что для микробиологического исследования нижних дыхательных путей образцы мокроты обладают очень низкими показателями достоверности (*Sp* - 13%, *As* - 27%, *PVP* - 23%, *PVN* - 42%). Показатели исследования материала бронхиального аспирата / лаважа немного лучше: *Sp* - 37%, *PVP* - 35%, *PVN* - 64,5%, *As* - 46%. *Se* - бронхиальный аспират / лаваж (62%), мокрота (58%).

### **Значимость выбора методики исследования дыхательных путей в диагностике послеоперационных инфекционных осложнений лёгких у больных онкологического профиля**

Для оценки эффективности методики забора материала из дыхательных путей проведен анализ инфекционных осложнений лёгких у больных, которым в 2005 - 2007 году выполнено хирургическое вмешательство по поводу злокачественных опухолей лёгких в Московской городской онкологической больнице № 62. Исследование дыхательных путей в этой группе пациентов выполнялось только при помощи стандартных неинвазивных методов (мазки из зева, отделяемая мокрота), противомикробное лечение назначалось в соответствии с полученными результатами. Состояла группа сравнения из 33 больных, мужчин - 27 (82%), минимальный возраст - 44 года, максимальный возраст - 76 лет, медиана - 62 года. Женщин - 6 (18%), минимальный возраст - 58 лет, максимальный возраст - 74 года, медиана - 65 лет.

У пациентов в группе сравнения (2005 - 2007 г.) полостные операции (33) выполнены в объёме: лобэктомии - 16 (48%), пневмонэктомии - 5 (15%), резекции лёгких (анатомическая, краевая, атипичная) - 11 (33%), одна диагностическая торакотомия (3%). После чего у 18 больных (54,5% из 33) в среднем через 9 суток развилась лёгочная инфекция, потребовалось противомикробное лечение. Средний койко - день, проведенный этими пациентами в стационаре составил - 44 дня. Летальных исходов не было.

Из пациентов I и II группы выбрали только тех, которые были оперированы в 2010 - 2012 году. Таким образом, сформировали группу из 39 человек, мужчин было - 28 (72%), минимальный возраст составил - 46 лет, максимальный - 75 лет, медиана - 56 лет. Женщин - 11 (28%), минимальный возраст - 41 год, максимальный - 74 года, медиана - 61 год. В группе больных, прооперированных 2010 - 2012 году, предоперационное исследование дыхательных путей было в полном объёме (мазки из зева, исследование мокроты, бронхиальный аспират / лаваж, «защищённая» щёточная биопсия) и противомикробная терапия назначалась в соответствии с полученными данными. Хирургическое вмешательство в этой группе проведено 39 больным: лобэктомии - 16 (41%), пневмонэктомии - 5 (13%),

резекции лёгких (анатомическая, краевая, атипичная) - 12 (31%), эндоскопическая лазерная реканализация просвета бронхов - 4 (10%), диагностическая торакотомия - 1 (2,5%), диагностическая торакоскопия - 1 (2,5%). После чего у 10 больных (26% из 39) в среднем через 6 суток развилась респираторная инфекция. Летальных исходов не было. Средний койко - день, проведенный этими больными в стационаре, составил - 24 дня.

Полученные результаты подтверждают, что методика забора материала из дыхательных путей в полном объёме (совместно инвазивными и неинвазивными способами) позволила провести эффективную профилактическую и лечебную противомикробную терапию. Это существенно сократило количество инфекционных осложнений, снизило затраты на послеоперационное лечение больных и почти в два раза уменьшило продолжительность пребывания пациентов в стационаре.

## ВЫВОДЫ

1. Микробиологическое исследование содержимого дыхательных путей у больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе, ассоциированных с хронической обструктивной болезнью лёгких, показало, что стандартные методы забора материала не всегда достоверны и не удовлетворяют запросам клиницистов. При стандартных методах (мазки из зева, забор мокроты) практически всегда происходит контаминация материала в верхних дыхательных путях, что дает искажённое представление о характере инфицирования лёгких. Методика выделения материала при помощи бронхиального аспирата / лаважа сама по себе также обладает низкими показателями достоверности, особенно в отношении клинически значимых грамотрицательных микроорганизмов.
2. В верхних дыхательных путях больных со злокачественными опухолями лёгких, в том числе ассоциированных с хронической обструктивной болезнью лёгких, преобладают грибы рода *Candida*, в нижних дыхательных путях преимущественно присутствуют грамотрицательные микроорганизмы. Это удаётся выявить только применяя инвазивные методы исследования: бронхиальный аспират / лаваж и «защищённую» щёточную биопсию.
3. Микробная нагрузка в нижних дыхательных путях у больных раком лёгкого в совокупности с хронической обструктивной болезнью лёгких гораздо выше, чем у больных со злокачественными опухолями лёгких (I группа - у 52 пациентов выявлено 108 штаммов микроорганизмов, II группа - у 23 больных обнаружено 115 штаммов микроорганизмов).
4. Ни один из методов забора материала для микробиологического исследования дыхательных путей не может быть значимым в самостоятельном варианте. Полное представление о характере инфекции в органах дыхания у больных со злокачественными опухолями лёгких можно получить только при комплексном

исследовании мазка из зева, мокроты, бронхиального аспирата /лаважа и материала «защищённой» щёточной биопсии. Такой подход позволяет проводить адекватную противомикробную терапию при любом варианте течения инфекции.

5. Предложенный подход к исследованию дыхательных путей больных со злокачественными опухолями лёгких позволил в течении 5 лет снизить количество инфекционных послеоперационных осложнений с 54,5% до 26%, пребывание пациентов в стационаре сократилось вдвое (с 44 до 24 койко - дней).

#### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Изучение микробиоты дыхательных путей у всех больных, страдающих опухолями лёгких, необходимо проводить с помощью обязательного исследования материалов, полученных путём мазков из зева, мокроты, бронхиального аспирата / лаважа и «защищённой» щёточной биопсии.
2. Итоги микробиологических исследований должны оцениваться только в совокупности. Такой подход позволяет получить наиболее достоверное представление о респираторной инфекции и выбрать оптимальный вариант противомикробной терапии каждому конкретному больному.
3. При обследовании всех больных по поводу опухолей лёгких, учитывая частую ассоциацию рака с хронической обструктивной болезнью лёгких, необходимо исследовать функцию внешнего дыхания. При снижении показателей, спирометрию необходимо повторить после приёма бронходилататоров.

#### **ПЕРСПЕКТИВЫ НАПРАВЛЕНИЯ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Данные микробиологического мониторинга антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных пневмоний могут стать основой разработки эффективной антибактериальной терапии в Московской городской онкологической больнице № 62. Внедрение программы микробиологического мониторинга в работу лечебных учреждений позволит более эффективно использовать финансовые ресурсы при планировании закупок антимикробных препаратов. Дальнейшее изучение микроорганизмов, являющихся возбудителями нозокомиальных пневмоний, необходимо проводить с использованием современных методов масс-спектрометрического и молекулярно - генетического типирования и определения механизмов их антибиотикорезистентности, что расширит представление об этиологической значимости выделенных бактерий.

#### **СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Ардатская, М.Д. Изучение метаболитов микрофлоры в различных биосубстратах у больных раком легкого и ХОБЛ: их диагностическое и прогностическое значение / М.Д. Ардатская, В.В. Шевцов, А.Н. Жакот, С.Д. Митрохин, А.Ю. Миронов, А.А. Соколов // Материалы IX

- научно-практической конференции Департамента здравоохранения города Москвы «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика осложнений». - Сборник конгресса. - Москва, 2011. – С.16.
2. Шевцов, В.В. Оптимизация сопроводительной терапии на до- и послеоперационном этапах у больных раком легкого в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких с целью профилактики нозокомиальной пневмонии / В.В. Шевцов, С.Д. Митрохин, А.Ю. Миронов, **А.Н. Жакот**, А.А. Соколов // Материалы научно - практической конференции «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений». - Сборник конгресса. - Москва, 2012. - С. 85 -86.
  3. **Жакот, А.Н.** Сравнительная характеристика методов бактериологического исследования дыхательных путей у больных злокачественными опухолями легкого / А.Н. Жакот, В.В. Шевцов, С.Д. Митрохин, Н.П. Забазный, Б.С. Ленский // Материалы VIII съезда онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии. - Сборник конгресса. - Казань, 2014. - С. 355.
  4. **Миронов, А.Ю.** Диагностическое и прогностическое значение метаболитов микрофлоры в различных биосубстратах у больных раком лёгкого и ХОБЛ / А.Ю. Миронов, С.Д. Митрохин, М.Д. Ардатская, В.В. Шевцов, **А.Н. Жакот** // Клиническая лабораторная диагностика. - 2012. - № 9. - С. 83 - 84.
  5. Шевцов, В.В. Микрофлора нижних дыхательных путей у больных раком легких и хронической обструктивной болезнью легких / В.В. Шевцов, **А.Н. Жакот**, С.Д. Митрохин, А.Ю. Миронов, Н.П. Забазный, А.А. Соколов // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». - 2012. - № 4. - С. 87- 92.
  6. Шевцов, В.В. Оптимизация сопроводительной терапии на до- и послеоперационных этапах у больных раком легкого в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких с целью профилактики нозокомиальной пневмонии / В.В. Шевцов, А.Ю. Миронов, **А.Н. Жакот**, С.Д. Митрохин, А.А. Соколов // Научный сборник «Проблемы антибиотикорезистентности возбудителей внутрибольничных инфекций». - Ростов на Дону, 2013. - С.62 - 67.
  7. **Ардатская, М.Д.** Метаболиты микрофлоры различных биотопов при заболеваниях бронхолёгочной системы / М.Д. Ардатская, В.В. Шевцов, **А.Н. Жакот**, И.Н. Феданков, С.Д. Митрохин, А.Ю.



### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

|      |  |
|------|--|
| ОФВ1 | объём форсированного выдоха за первую секунду  |
| ХОБЛ | хроническая обструктивная болезнь лёгких   |
| Ac   | ассигасу, диагностическая точность, доля правильных результатов теста, т.е. сумма истинно положительных истинно отрицательных результатов среди всех обследованных пациентов   |
| PVN  | negative predictive value, прогностическая ценность отрицательного результата, пропорция истинно отрицательных результатов теста среди всех отрицательных значений   |
| PVP  | positive predictive value, прогностическая ценность положительного результата, пропорция истинно положительных результатов среди всех положительных значений теста   |
| Se   | sensitivity, чувствительность, способность диагностического метода давать правильный результат, который определяется как доля истинно положительных результатов среди всех проведенных тестов  |
| Sp   | specificity, специфичность, способность диагностического метода не давать при отсутствии заболевания ложноположительных результатов, который определяется как доля истинно отрицательных результатов среди здоровых лиц в группе исследуемых |