

Шевцов Вячеслав Вячеславович

Состояние микробиоты дыхательных путей и кишечника у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, и методы ее коррекции

03.02.03 — микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Митрохин Сергей Дмитриевич

Официальные оппоненты:

Червинец Вячеслав Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии, заведующий кафедрой.

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

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России).

Защита состоится «__» _____ 2017 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 Федерального бюджетного учреждения 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, 10, <http://www.gabrich.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук, доцент

Борисова Ольга Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Ежегодно злокачественные новообразования лёгкого диагностируются примерно у 1,2 млн. пациентов, от них погибают более 1 млн. человек в год (Трахтенберг А.Х., 2009). Первое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения России, по данным отчета по заболеваемости и смертности за 2014г., занимают опухоли трахеи и легкого (17,8%).

Среди больных раком легких доля пациентов с ХОБЛ составляет более 50% (Adcock I.M., 2011). По данным исследования Глобального альянса по борьбе с хроническими респираторными заболеваниями (GARD), в России в 2013 г. при проведении спирометрического исследования диагноз ХОБЛ был поставлен 21,8% респондентов. Экстраполируя эти данные на общую популяцию, можно предположить, что доля больных со спирометрически подтвержденным диагнозом ХОБЛ составила бы 15,3% населения России, или 21 986 100 человек. Лечение больных раком легких в настоящее время включает все принятые в современной клинической онкологии методы: хирургический, лучевой, химиотерапевтический и их различные сочетания.

Анализ причин смерти онкологических больных (Дронова О.М., 1991) выявил, что инфекционные осложнения являются причиной гибели примерно 1/3 онкологических больных (28,6-32,0%). Онкологические больные, являясь иммунокомпрометированными лицами, в обязательном порядке должны рассматриваться как пациенты с высоким риском развития инфекции (Митрохин С.Д., 2012). Одним из наиболее грозных осложнений, приводящих к смерти больных, оперированных по поводу рака легких, является нозокомиальная пневмония (Трахтенберг А.Х., Чисов В.И., 2009; Akinosoglou K.S., 2013). Нозокомиальная пневмония занимает ведущее место среди инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и встречается с частотой 53,4% у пациентов, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии (Страчунский Л.С., 2000). Основными патогенами инфекционных лёгочных осложнений у больных хирургического профиля являются грамотрицательные условно-патогенные микроорганизмы, подавляющее большинство из которых имеет «первичное или вторичное» гастроэнтерогенное происхождение (Van Saene H., 1998). Впервые транслокация микрофлоры из кишечника описана Дюрвандингом 1881 году. Некоторые авторы (Margin H., Kollef M.D., 1999) считают транслокацию фактором патогенеза развития нозокомиальной пневмонии.

Нормальная микрофлора человека выполняет многочисленные функции по поддержанию гомеостаза (Шендеров Б.А., 1998). Анаэробная часть кишечной микрофлоры, в основном за счёт бифидобактерий и лактобактерий, обеспечивает колонизационную резистентность и подавляет рост условно-патогенной аэробной бактериальной микрофлоры. Длительное и частое бесконтрольное применение антибиотиков при лечении обострения ХОБЛ приводит к развитию дисбиоза кишечника (Ефименко А.Н., 2005). В фазе обострения у больных ХОБЛ в 49% случаев выявлены идентичные штаммы условно-патогенных микроорганизмов в биотопах кишечника и бронхолёгочного аппарата. Высказано предположение, что это обусловлено не только механиз-

мами кооперации (антогонизма) между отдельными видами бактерий, но и их транслокацией из одних органов в другие (Осипов П. Ю., 2003). Кроме дисбиотических изменений в нормальной микрофлоре толстой кишки, у больных ХОБЛ имеются выраженные нарушения клеточного и гуморального звеньев иммунитета (Галимова О.В., 2002). Развитие инфекционного процесса в лёгких можно рассматривать как результат нарушения баланса между факторами агрессии, способствующими попаданию в дыхательные пути большого количества высококовирулентных микроорганизмов, и факторами противоинфекционной защиты. В процессе лечения пациента, страдающего раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, чрезвычайно важно знать состояние микрофлоры дыхательной системы и кишечника.

С учётом выше изложенного, больные раком легких, ассоциированным с ХОБЛ, в пред- и послеоперационном периоде нуждаются в специальной сопроводительной терапии для профилактики и лечения нозокомиальной пневмонии и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, что несомненно является актуальной задачей и будет способствовать улучшению качества жизни этой категории онкологических больных.

Степень разработанности темы исследования

Инфекции являются частью естественного течения рака легких, но исследований, посвящённых микрoэкологическим аспектам инфекционного процесса у больных раком легких относительно немного. Очень мало работ посвящено теме изучения инфекции дыхательных путей у пациентов со злокачественными опухолями лёгких, ассоциированных с ХОБЛ. На данный момент остаются актуальными вопросы исследования этиологии и патогенеза инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, мониторинга структуры патогенов. У пациентов, которые получали пробиотики на фоне базисной терапии хронического бронхита, можно добиться стойкого клинического эффекта, проявляющегося в уменьшение числа рецидивов заболевания и уменьшение микробной колонизации слизистой оболочки бронхиального дерева (Бачинская Е. Н., 2005). Коррекция микробиоценоза входит в обязательную программу принципов лечения не только заболеваний кишечника, но и других органов и систем (Григорьев П. Я., 1999).

Однако, в научной литературе практически не освещён вопрос о состоянии микробиоценоза кишечника у больных раком легких, не определена роль дисбиоза кишечника в развитии пневмоний у этой категории больных. В доступной литературе не найдено данных о комплексном подходе к лечению больных данной категории с учётом лечения ХОБЛ и дисбиоза для профилактики нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде.

Мы предполагаем, что комплексная оценка состояния микробиоценоза нижних дыхательных путей и кишечника у больных раком легких, ассоциированного с ХОБЛ, основанная на результатах микробиологического и газо-жидкостного хроматографического анализа микрофлоры, открывает возможности совершенствования диагностики, профилактики и лечения как нозокомиальной пневмонии, так и других форм инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, что актуально и имеет важное значение как для медицинской науки, так и для практического здравоохранения.

Цель исследования

Оценить состояние микробиоты нижних дыхательных путей и кишечника методом микробиологического и газо-жидкостного хроматографического анализа для проведения ее коррекции у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, с целью профилактики развития нозокомиальной пневмонии.

Задачи исследования:

1. Изучить состояние микробиоты нижних дыхательных путей и толстой кишки у больных раком лёгких, ассоциированным с ХОБЛ.
2. Изучить методом газо-жидкостного хроматографического анализа содержание и профиль короткоцепочечных жирных кислот у больных раком лёгких и ХОБЛ в различных биосубстратах (мокрота, кал); оценить их диагностическое значение.
3. Изучить взаимосвязь между определяемыми показателями и развитием осложнений в послеоперационном периоде; оценить прогностическое значение изучаемых показателей.
4. На основании полученных результатов исследования состояния микрофлоры нижних дыхательных путей и кишечника, адаптировать ранее разработанную схему сопроводительной терапии для больных раком толстой кишки, применительно для больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, с целью снижения частоты развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде.
5. Оценить эффективность данной схемы противомикробной и иммунобиологической терапии для снижения частоты развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде у больных раком легких, ассоциированным с ХОБЛ.

Научная новизна исследования

Изучены проблемные патогены у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, - *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Acinetobacter spp*, *M. catarrhalis*, *E. aerogenes* и доказана их роль в развитии нозокомиальной пневмонии у этой категории больных.

Впервые методом газо-жидкостного хроматографического анализа проведено исследование метаболитов микроорганизмов — короткоцепочечных жирных кислот — в мокроте у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, и установлены маркёры риска развития нозокомиальной пневмонии, что открывает новые возможности для улучшения диагностики и лечения инфекционных осложнений у этой категории больных.

Изучены взаимосвязь и влияние микробиоты нижних дыхательных путей и толстого кишечника на развитие нозокомиальной пневмонии у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ.

Показано, что дисбиоз толстой кишки является одним из факторов риска развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Расширены представления о патогенетической значимости изменений микробиоценоза в различных биотопах (дыхательные пути и кишечник) в развитии воспалительных осложнений в бронхолегочной системе.

Доказана целесообразность исследования метаболитов микрофлоры у больных со злокачественными новообразованиями респираторного тракта как нижних дыхательных путей, так и кишечника в связи с ее отягощающим влиянием на течение основного заболевания.

Разработана схема сопроводительной терапии ("МИБ-терапии") для больных со злокачественными новообразованиями бронхов и лёгких с сопутствующей ХОБЛ в пред- и раннем послеоперационном периоде для профилактики и лечения нозокомиальной пневмонии и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Проведена клиническая и микробиологическая оценка эффективности схемы сопроводительной терапии (МИБ-терапии) для больных раком лёгкого и ХОБЛ. Используемая нами схема сопроводительной противомикробной и иммунобиологической терапии (МИБ-терапия) снизила в два раза количество нозокомиальных пневмоний и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в предоперационном и раннем послеоперационном периоде у больных раком легких, ассоциированным с ХОБЛ, что способствует улучшению качества жизни данной категории онкологических больных.

Результаты исследования внедрены в лечебную работу Государственного бюджетного учреждения города Москвы «Московской городской онкологической больницы № 62 Департамента Здравоохранения города Москвы», а также в работу терапевтических и хирургических отделений Государственного бюджетного учреждения города Москвы «Городской клинической больницы № 51 Департамента Здравоохранения г. Москвы (акты внедрения от 10.02.2017 г. и 17.04.2017 г.). Материалы диссертации используются в учебных программах на кафедре гастроэнтерологии Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования «Центральной государственной медицинской академии» Управления делами Президента РФ при чтении лекций, проведении семинаров в рамках учебных планов циклов подготовки ординаторов, профессиональной переподготовки специалистов, повышения квалификации врачей по специальности «Терапия» (акт внедрения 03.02.2017.).

Методология и методы исследования

Методология данной работы спланирована согласно поставленной цели исследования и включает современные методы научного познания для определения характеристик компонентов, необходимых для решения поставленных задач. Теоретической основой исследования являются данные научной литературы по проблеме влияния микробиоты больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, на развитие нозокомиальной пневмонии в раннем послеоперационном периоде и путях ее коррекции.

Предметом исследования явилось изучение взаимосвязи и влияния микробиоты нижних дыхательных путей и толстого кишечника на развитие нозокомиальной пневмонии у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, в послеоперационном периоде.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования. Объектом исследования послужила микрофлора нижних дыхательных путей и кишечника больных раком легких, ассоциированного с ХОБЛ. В работе применялся комплекс бактериологических, биохимических, статистических методов исследования.

Проведено исследование короткоцепочечных жирных кислот (C_2-C_6) в фекалиях и мокроте методом газо-жидкостного хроматографического анализа.

Исследование проводилось в 2009-2012 годах в соответствии со статьями 30-34, 61 Основ законодательства РФ об охране здоровья граждан от 22.07.1993 г. № 5487-1, ст. 18, 20-22, 28, 41 Конституции Российской Федерации. Все исследуемые лица давали информационное добровольное согласие на выполнение диагностических исследований и лечебных мероприятий, а в соответствии с требованиями статьи 9 Федерального закона от 27.07.2006 «О персональных данных» № 152-ФЗ – на обработку персональных данных.

Для решения поставленных задач были отобраны 158 пациентов, находящихся на обследовании и лечении в Государственном бюджетном учреждении города Москвы «Московской городской онкологической больнице №62 Департамента Здравоохранения города Москвы».

Всем пациентам, поступившим с предварительным клиническим диагнозом «рак лёгкого», проводилось обследование, включающее следующие методы исследования: рентгенография и компьютерная томография грудной клетки, бронхоскопия, ультразвуковое исследование печени, почек, надключичных лимфатических узлов. Верификация диагноза производилась с помощью биопсии при бронхоскопии при центральном раке легкого и во время операции по результатам срочного гистологического исследования при периферическом раке легкого. Для определения стадии развития рака использовалась международная классификация по системе TNM (2009г.). Диагностика ХОБЛ осуществлялась согласно международным рекомендациям (GOLD, 2008).

По результатам обследования были сформированы следующие группы больных:

1. Основная группа - 60 чел. Пациенты страдали РЛ, ассоциированного с ХОБЛ. Группа состояла из 56 мужчин (93,3%) и 4 женщин (6,7%) в возрасте от 42 до 81 лет, средний возраст в группе составил $61,5 \pm 19,5$ лет. У 44 (73,3%) пациентов этой группы диагностирована периферическая форма, а у 16 (26,7%) — центральная форма рака легкого. В основной группе у 27 (45%) пациентов была ХОБЛ первой стадии, у 29 (48,3%) - второй стадии и у 4 (6,7%) - третьей стадии. Дополнительно пациенты основной группы были рандомизированы методом случайных чисел в две подгруппы: подгруппа I — 30 чел., которым проводилась МИБ-терапия; подгруппа II — 30 чел., которым не проводилась МИБ-терапия.

2. Группа сравнения I - 30 чел. Пациенты страдали РЛ, но ХОБЛ диагностирована не была. Группа включала 16 (53,3%) женщин и 14 (46,7%) мужчин от 30 до 77 лет. Средний возраст больных в этой группе составил $61,9 \pm 23,5$ лет. У 11 (36,7%) больных диагностирована центральная форма и у 19 (63,3%) - периферическая форма рака легкого.

3. Группа сравнения II - 38 чел. Пациенты страдали ХОБЛ, но опухолевой патологии в лёгких у них выявлено не было. Группа включала 38 мужчин, средний возраст которых составил $61,9 \pm 18,1$ лет. При обследовании у 16 (42,2%) пациентов диагностирована ХОБЛ первой стадии, у 19 (50%) — второй стадии и у 3 (7,8%) — третьей стадии.

4. Группа сравнения III - 30 чел. Пациенты были без злокачественных новообразований лёгких и ХОБЛ. Группа состояла из 30 чел.: 14 (46,7%) мужчин и 16 (53,3%) женщин от 24 лет

до 75 лет, средний возраст составил $58,5 \pm 25,5$ лет. У пациентов этой группы установлены следующие диагнозы: гамартома лёгкого (14 случаев), склерозирующая гемангиома (1 случай), очаговый пневмофиброз (9 случаев), сосудистая мальформация (1 случай), саркоидоз лёгких (5 случаев).

Микробиологические методы исследования

Сбор, транспортировка, посев клинического материала для культивирования штаммов госпитальной микрофлоры

1. Мокрота.

Микробиологическое исследование отделяемого нижних дыхательных путей проводили согласно приказу МЗ СССР № 535 от 22.04.85 с использованием общепринятых дифференциально-диагностических сред.

Таблица 1 - Оценка качества мокроты по Murray/Washington (Parkin D. M., 2005).

Группа	Количество клеток	
	эпителиальные клетки	лейкоциты
1	25	10
2	25	10-25
3	25	25
4	10	25
5	<10	25

По данной градации только группа 5 считалась удовлетворительной для проведения последующего микробиологического исследования (таблица 1).

В мокроте, собранной с нарушением требований, содержалась главным образом слюна, непригодная для дальнейшего исследования в плане адекватной оценки этиологического агента. Образцы, не отвечающие требованиям, браковались и в исследование не включались.

Посев производился количественным методом и для него особое значение имеет тщательная гомогенизация исследуемого материала, т. к. микробы располагаются в мокроте неравномерно и микрофлора, являющаяся в основном виновником воспалительного процесса, оказывается «замурованной» в середину гнойных комочков отделяемого нижних дыхательных путей. Поэтому перед посевом на плотные питательные среды образцы тщательно гомогенизировали механическим путём на шейкере, с добавлением бульона Хоттингера с 5% глюкозой и 20% лошадиной сывороткой, что значительно повышает высеваемость бактерий и улучшает выделение таких важных для диагностики микробов, как *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella spp.*, *Haemophilus spp.*

Из полученной гомогенизированной мокроты готовили последовательно десятикратно убывающие разведения до 10^6 , используя в качестве растворителя 2% пептонную воду. С помощью стерильной калиброванной пипетки производили засев 0,1 мл из двух рабочих разведений 10^4 , 10^6 , начиная с разведения 10^6 , на питательные среды для количественного определения выросших микробов.

Использовали следующие питательные среды:

1. 5% кровяной агар с диском оптохина в центре питательной среды;
2. ЖСА;
3. среда Эндо;
4. среда Сабуро.

Посевы инкубировали в атмосферных условиях при 35°C в течение 24 часов. Чашки Петри с 5% кровяным агаром инкубировали в CO_2 -инкубаторе (5-10% CO_2). При отсутствии роста чашки с посевами оставляли на вторые сутки. После инкубации просматривали чашки с посевами и подсчитывали каждый вид микробов. Количество микробов определяли в максимальном разведении мокроты, в котором ещё удалось обнаружить данный вид бактерий.

Изоляты микроорганизмов, полученные при свободном откашливании, расценивали как этиологически значимые в концентрации: $>10^6$ КОЕ/мл. Для идентификации микроорганизмов и определения чувствительности к противомикробным препаратам использовали автоматический бактериологический анализатор «Vitek 2» (BioMerieux, Франция).

2. Кал.

У 60 пациентов, входящих в основную группы, было проведено бактериологическое исследование фекалий за 5 - 10 суток до операции, затем на 8-10 сутки после хирургического вмешательства. Всего было исследовано 120 образцов кала. Изучение микрофлоры кишечника проводили культуральным, биохимическим и микроскопическим методами согласно методическим рекомендациям «Комплексная диагностика, лечение и профилактика дисбактериоза (дисбиоза) кишечника в клинике внутренних болезней, 1997 г.» и оценивали по отраслевому стандарту ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (таблица 2).

Биохимическую идентификацию чистых культур кишечных бактерий и дрожжеподобных грибов проводили с использованием ручных и автоматизированных тест-систем фирмы Becton Dickinson (США). Стандартом для проверки пригодности используемых питательных сред служили соответствующие лиофилизированные культуры микроорганизмов из American Type Culture Collection (ATCC) – BBL QualiSwab (Becton Dickinson, США).

На основании критериев вышеприведенного ОСТ, в подгруппах больных определяли I, II, III степени дисбиоза; для более точной картины фазы и формы дисбиотического процесса выделяли также переходные I-II и II-III степени.

Таблица 2 - Рекомендуемые микробиологические показатели, питательные среды и условия культивирования фекальных микроорганизмов.

Исследуемые группы микроорганизмов	Питательные среды	Разведения фекалий для посева	Условия культивирования	Посуда, количество питательной среды
Облигатные анаэробы: бактероиды	Анаэробный агар (типа Шадлера) с канамицином и ванкомицином	$10^7, 10^8$	37°C, 48 часов анаэробные	Чашки Петри, 20-25мл
пептококки, пептострептококки, вейлонеллы	Анаэробный агар (типа Шадлера) с колимицином и налидиксовой кислотой	$10^5, 10^6$	37°C, 48 часов анаэробные	Чашки Петри, 20-25мл
бифидобактерии	Среда Блаурокка, модифицированная	$10^6, 10^8$	37°C, 48 часов анаэробные	Бактериологические пробирки, 9 мл
клостридии	Среда Вильсон-Блера	$10^4, 10^6, 10^8$	37°C, 24 часа анаэробны	Бактериологические пробирки, 9 мл
Факультативные анаэробы: кишечные палочки лактозонегативные, УПБ*	Среда Эндо Среда Симмонса (цитратный агар)	$10^2, 10^4, 10^6$	37°C, 24 часа аэробные	Чашки Петри, 20-25 мл
стафилококки	Желточно-солевой агар (среда Чистовича)	$10^2, 10^4, 10^6$	37°C, 48 часов аэробные	Чашки Петри, 20-25 мл
энтерококки	Азидовый агар	$10^3, 10^5, 10^7$	37°C, 72 часа	Чашки Петри, 20-25 мл
Гемолитические штаммы бактерий	Кровяной агар	$10^3, 10^5, 10^7$	37°C, 24 часа аэробные	Чашки Петри, 20-25 мл
Микроаэрофилы: лактобактерии	Среда для молочнокислых бактерий (типа MRS)	$10^5, 10^7$	37°C, 48 часов, CO ₂ атмосфера	Чашки Петри, 20-25 мл
Грибы дрожжеподобные	Среда Сабуро с пенициллином и стрептомицином	$10^2, 10^4, 10^6$	35°C, 48 часов аэробные	Чашки Петри, 20-25 мл

Примечание: *УПБ – условно-патогенные бактерии

3. ГЖХ - анализ.

Методом ГЖХ было исследовано 188 образцов мокроты и 188 образцов кала. Исследование мокроты и кала методом ГЖХ было проведено у 60 больных основной группы, у 38 пациентов II группы и у 30 пациентов из III группы. Анализ образца проводился на хроматографе с детектором ионизации в пламени, используя кварцевую капиллярную колонку длиной 32 м, внутренним диаметром 0,25 мм с неподвижной фазой типа FFAP толщиной пленки 0,27 мкм. Режим работы - изотермический с температурой термостата 140° С, температурой испарителя и детектора 235° С. Газ-носитель - азот, с давлением на входе в колонку 1,8 атм. Расход газ-носителя 2 мл/ мин, водорода 25 мл/ мин, и воздуха 300 мл/ мин. Соотношение потоков газ-носителя на сброс и в колонку — 50:1. Время анализа — 10 мин.

Статистические методы обработки данных.

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 - χ^2). Критерий Колмогорова - Смирнова использовался для проверки нормального характера распределения. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$. Для протяженных переменных рассчитывали средние величины, их стандартные отклонения и ошибки ($M \pm m$ для $p \leq 0,05$). Для сравнения средних показателей КЖК между изучаемыми группами и подтверждения их достоверности использовали линейный регрессионный анализ с вычислением доверительных интервалов угла наклона (а) и свободного члена (b) в уравнениях регрессии. Расчет линейной регрессии производился по формуле: $y = a(\pm S_a) + b(\pm S_b) x$, где S_a и S_b стандартная ошибка оценивания. Также был рассчитан множественный коэффициент детерминации R^2 , что позволило получить количественную оценку характера и достоверности полученных данных. Для изучения корреляции избранных показателей проводили корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции (r).

Личное участие автора в получении результатов

Участие автора заключалось в получении результатов, изложенных в диссертационной работе, анализе и систематизации полученных результатов.

Автором лично проведен подбор пациентов, контроль за правильностью взятия материала. Микробиологический анализ мокроты и кала проводился на базе бактериологической лаборатории в ГБУЗ МГОБ № 62 Департамента здравоохранения г. Москвы совместно с заведующим бактериологической лабораторией, к.м.н. М.М.Зубковым. Изучение полученных результатов исследования мокроты и кала методом газо-жидкостного хроматографического анализа проводился совместно с д.м.н., профессором М.Д. Ардатской.

Положения, выносимые на защиту:

1. Проблемные патогены нозокомиальной пневмонии у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ — *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Acinetobacter spp*, *M. catarrhalis*, *P. aeruginosa* и дрожжевые грибы.
2. После оперативного вмешательства снижается степень выраженности дисбиоза толстой

кишки в подгруппе, которая получала изложенную в диссертации схему сопроводительной терапии, а в контрольной группе – нарастает за счёт снижения количества лактобактерий и увеличения количества гемолитических и лактозонегативных *E. coli* и других условно-патогенных микроорганизмов.

3. Маркёрами риска развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, являются повышение абсолютной концентрации короткоцепочечных жирных кислот в мокроте и снижение в кале, повышение пропионовой и масляной кислот, снижение содержания уксусной кислоты, смещение анаэробного индекса в область отрицательных значений, увеличение показателя отношения изокилот к кислотам с неразветвлённой цепью (ZiC_n/C_n , iC_5/C_5), повышение суммарного показателя изокилот (ZiC_n) в мокроте и кале.
4. Адаптированная схема сопроводительной антимикробной и иммунобиологической терапии снизила в два раза количество нозокомиальных пневмоний и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в предоперационном и раннем послеоперационном периоде у больных раком легких, ассоциированным с ХОБЛ, что способствует улучшению качества жизни данной категории онкологических больных.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

О достоверности полученных результатов работы свидетельствуют достаточный объём выборки анализируемых образцов (180 образцов мокроты и 120 образцов кала исследуемых больных). Изолировано 268 штаммов условно - патогенных микроорганизмов из мокроты и 586 штаммов микроорганизмов из фекалий. Методом газо-жидкостного хроматографического анализа исследовано 188 образцов мокроты и 188 образцов кала. Комплексное исследование и статистический анализ позволили получить данные, сопоставимые с данными других авторов, что также свидетельствует о достоверности полученных результатов.

Диссертация апробирована на заседании секции Учёного Совета ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (протокол №1 от 12.01.2017 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, 2014 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 6 в рецензируемых журналах; 6 – в материалах и сборниках конференций.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 172 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, трех глав результатов собственных исследований и их обсуждений, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка использованных литературных источников, приложения.

Диссертация иллюстрирована 33 таблицами и 14 рисунками. Список литературы содержит 208 работы, в том числе 94 - отечественных и 114– зарубежных публикаций.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Для определения особенностей и/или различий в микрофлоре больных РЛ, ассоциированного с ХОБЛ, от больных РЛ без ХОБЛ мы исследовали микробиологическим методом мокроту от 60 больных РЛ, ассоциированного с ХОБЛ (основная группа), у 30 больных РЛ (группа сравнения I) и 30 пациентов без РЛ и ХОБЛ (группа сравнения III). Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Микробный пейзаж нижних дыхательных путей у пациентов основной группы и групп сравнения

Микроорганизмы	Группа III		Группа I		Основная группа	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Грамположительные бактерии, в том числе:	19	73,1%	29	70,7%	48	49,5%
<i>Streptococcus viridans</i>	13	50%	20	48,8%	36	37,1%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	7,7%	6	14,6%	9	9,3%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	0%	2	4,9%	-	0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	15,4%	1	2,4%	3	3,1%
Грамотрицательные бактерии, в том числе:	2	7,7%	6	14,6%	22	22,7%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	3,8%	-	0%	5	5,2%
<i>Enterobacter spp.</i>	-	0%	-	0%	5	5,2%
<i>Escherichia coli</i>	1	3,8%	3	7,3%	5	5,2%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	0%	1	2,4%	4	4,1%
<i>Acinetobacter spp.</i>	-	0%	-	0%	1	1%
<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	0%	-	0%	1	1%
<i>Citrobacter freundii</i>	-	0%	-	0%	1	1%
<i>Neisseria spp.</i>	-	0%	2	4,9%	-	0%
Грибы рода <i>Candida</i> , в т. ч.	5	19,2%	6	14,6%	27	27,8%
<i>Candida albicans</i>	5	19,2%	5	12,2%	27	27,8%
<i>Candida glabrata</i>	-	0%	1	2,4%	-	0%
Итого:	26	100%	41	100%	97	100%

При сравнении микробного пейзажа нижних дыхательных путей у трёх исследуемых групп (таблица 3) отмечалось увеличение удельного веса грамотрицательной микрофлоры в микробном пейзаже НДП пациентов, составляющих основную группу, по сравнению с группами сравнения I и III. На долю грамотрицательной микрофлоры в основной группе приходилось 22,7%, в группе сравнения I — 14,6%, а в группе сравнения III — 7,7%. В основной группе отмечалось появление в микробном пейзаже таких УПМ как: *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Acinetobacter spp*, *M. catarrhalis*. Содержание *P. aeruginosa* составило 4,1%, в III группе - 0%, а в I группе 2,4%. Содержание *K. pneumoniae* в основной группе также было самым высоким, по

сравнению с другими группами — 5,2%. Пул грибов рода *Candida* в основной группе выше, чем в группах сравнения. Содержание грибов в основной группе составляло 27,8%, в группе сравнения III — 19,2%, в группе сравнения I — 12,2%.

Далее мы изучили микробный пейзаж НДП у больных РЛ, ассоциированным с ХОБЛ, у которых течение послеоперационного периода осложнилось присоединением НП (таблица 4).

Таблица 4 - Микробиота НДП у больных РЛ, ассоциированного с ХОБЛ и НП

Микроорганизмы	До лечения пневмонии		После лечения пневмонии	
	абс.	%	абс.	%
Грамположительные бактерии, в т. ч.:	20	47,6%	23	54,8%
<i>S. group viridans</i>	15	35,7%	17	40,5%
<i>S. pyogenes</i>	3	7,1%	-	0%
<i>S. aureus</i>	2	4,8%	2	4,8%
<i>S. haemolyticus</i>	-	0%	3	7,1%
<i>S. epidermidis</i>	-	0%	1	2,4%
Грамотрицательные бактерии, в т. ч.:	9	21,4%	8	19%
<i>K. pneumoniae</i>	1	2,4%	3	7,1%
<i>Enterobacter spp.</i>	2	4,8%	2	4,8%
<i>E. coli</i>	1	2,4%	2	4,8%
<i>P. aeruginosa</i>	3	7,1%	-	0%
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	2,4%	1	2,4%
<i>M. catarrhalis</i>	-	0%	-	0%
<i>C. freundii</i>	1	2,4%	-	0%
Грибы, в том числе:	13	31%	11	26,2%
<i>C. albicans</i>	13	31%	11	26,2%
Итого:	42	100%	42	100%

Сравнивая состав микрофлоры НДП у онкологических пациентов с НП ещё до её развития и после проведённой антибиотикотерапии, мы обнаружили некоторое снижение удельного веса грамотрицательной микрофлоры с 21,4% до 19%. Это снижение происходило за счёт уменьшения количества таких видов как *P. aeruginosa* и *C. freundii*. Отмечалось увеличение удельного веса грамположительной микрофлоры. Это происходило за счёт увеличения количества штаммов *S. group viridans*. В микробном пейзаже НДП появились микроорганизмы, не выявляемые до проведения антибактериальной терапии: *S. haemolyticus* и *S. epidermidis*, в тоже время не обнаружено штаммов *S. pyogenes*. Отмечалось уменьшение количества штаммов грибов с 31% до 26,2%.

Далее мы методом ГЖХ - анализа изучили состав и количество КЖК в мокроте среди трёх групп пациентов — основной и групп сравнения II и III (таблица 5).

Таблица 5 - Абсолютное содержание КЖК, профили С2-С4 кислот, значения АИ, суммарное относительное содержание изокилот, отношение изокилот к кислотам с неразветвленной цепью iC5/C5 в мокроте больных

Группа	Σ	pC2	pC3	pC4	АИ	iC5/C5	ΣiCn
Группа III (30)	0,032± 0,012	0,906± 0,011	0,085± 0,007	0,009± 0,003	-0,104± 0,009	1,35± 0,21	0,031± 0,008
Группа II (38)	0,201± 0,045*,* *	0,846± 0,014*,**	0,127± 0,009*,**	0,027± 0,005*	-0,190± 0,012*,**	1,76± 0,37*,**	0,059± 0,010*,**
Основная группа (60)	0,463± 0,117*,* *	0,795± 0,012*,**	0,174± 0,010*,**	0,031± 0,006*	-0,257± 0,019*,**	5,01± 2,11*,**	0,082± 0,019*,**

Примечание: данные представлены как «M±m»; где * - p<0,05 при сравнении с группой условной нормы III; ** - p<0,05 при сравнении между группами; N- количество пациентов.

Как видно из таблицы у больных РЛ с ХОБЛ отмечается повышение абсолютной концентрации КЖК, по сравнению с нормой (Σ КЖК ср. (С2-С6) норма (0,032 мг/г) < Σ КЖК ср. (С2-С6) ХОБЛ (0,201 мг/г) < Σ КЖК (С2-С6) РЛ (0,463) (мг/г) ((p<0,05) по сравнению с группой нормы).

Результаты относительного содержания С2-С4 демонстрируют достоверное повышение относительного содержания пропионовой и масляной кислот (pC3 (ср.) ХОБЛ =0,127 ед., pC4 (ср.) ХОБЛ =0,027 ед., pC3 РЛ=0,174 ед., С4_{РЛ}=0,031 ед.) при снижении содержания уксусной кислоты у больных ХОБЛ и раком легких (pC2_{ХОБЛ}=0,846ед., pC2_{РЛ}=0,795 ед.), по сравнению с нормой (p<0,05). Причем более выраженные изменения констатируются при РЛ.

Были рассчитаны значения АИ. Значения АИ в группах ХОБЛ и РЛ оказались смещены в область более отрицательных значений, по сравнению с нормой (АИ_{ср.ХОБЛ}=-0,190ед., АИ_{ср.РЛ}=-0,257ед.), ((p<0,05), по сравнению с группой нормы и между группами). При этом значения АИ в основной группе, при РЛ, отклоняются в более отрицательную область, по сравнению с группой ХОБЛ (Δ АИ_{ХОБЛ}-АИ_{РЛ}=-0,067ед.).

Далее мы изучили аналогичные показатели КЖК в кале больных тех же групп (таблица 6).

Таблица 6 - Абсолютное содержание КЖК, профили С2-С4 кислот, значения АИ, суммарное относительное содержание изокилот, отношение изокилот к кислотам с неразветвленной цепью iC5/C5 в кале больных

Группа	Основная группа	Группа II	Группа III
Σ	3,90±1,31*	4,81±1,29*	10,51±2,50
pC2	0,560±0,016*	0,590±0,014*	0,634±0,009
pC3	0,239±0,010*,**	0,219±0,009*,**	0,189±0,006
pC4	0,201±0,008*	0,191±0,007*	0,176±0,005
АИ	-0,786±0,020*,**	-0,695±0,018*,**	-0,576±0,0112
iC5/C5	4,5±2,1*	3,3±1,2*	2,1
Σ iCn	0,071±0,012*	0,065±0,011*	0,059±0,009

Примечание: данные представлены как «M±m»; где * - p<0,05 при сравнении с группой условной нормы III; ** - p<0,05 при сравнении между группами.

Суммарное абсолютное содержание КЖК в кале в зависимости от характера заболевания (Σ КЖК (С2-С6)ср. рЛ (3,90 мг/г) < Σ КЖК (С2-С6)ср. ХОБЛ (4,81мг/г) < Σ КЖК (С2-С6) норма) (10,51мг/г).

В профиле С2-С4 кислот в кале у больных основной группы с РЛ и ХОБЛ отмечается различной выраженности снижение относительного содержания уксусной кислоты (pC2ср.рЛ (0,560 ед.) < pC2ср.ХОБЛ(0,590 ед.) (p<0,05 при сравнении с нормой) при нарастании уровней пропионовой и масляной кислот (pC3ср., pC4 ср.рЛ(0,239 ед., 0,201 ед., соответственно) >pC3ср., pC4ср.ХОБЛ(0,219 ед., 0,191 ед., соответственно) (p<0,05 при сравнении с нормой), что сказывается на отклонении значений АИ в область более отрицательных значений (АИср.рЛ(-0,786ед.) <АИср. ХОБЛ(-0,695 ед.) (p<0,05 при сравнении с нормой и между группами). Показатели суммарного относительного содержания изокилот и отношения изоС5/С5 повышены по отношению к нормальным значениям: (Σ iCn)ср.рЛ (0,071 ед., p<0,05 при сравнении с нормой) > (Σ iCn)ср.ХОБЛ (0,065 ед., p>0,05 при сравнении с нормой), изоС5/С5ср.рЛ(4,5 ед., p<0,05 при сравнении с нормой) > изоС5/С5ср.ХОБЛ (3.3 ед., p>0,05 при сравнении с нормой).

Далее мы изучили профиль КЖК в кале пациентов основной группы с развившейся пневмонией (подгруппа I) и без пневмонии (подгруппа II) (таблица 7).

Таблица 7 - Абсолютное содержание КЖК, профили С2-С4 кислот, значения АИ, суммарное содержание изокилот, отношение изокилот к кислотам с неразветвлённой цепью iC5/C5 в кале основной группы больных с пневмонией и без пневмонии

Группа	Основная группа		Группа III
	подгруппа I	подгруппа II	
Σ	4,61±1,34*	3,98±1,16*	10,51±2,50
pC2	0,520±0,018*,**	0,586±0,012*,**	0,634±0,009
pC3	0,248±0,010*,**	0,213±0,007*,**	0,189±0,006
pC4	0,232±0,009*,**	0,201±0,007*,**	0,176±0,005
АИ	-0,923±0,024*,**	-0,706±0,019*,**	-0,576±0,012

Продолжение таблицы 7

iC5/C5	5,9±1,2*,**	3,4±1,4*,**	2,1
ΣiCn	0,085±0,010*	0,069±0,010*	0,059±0,009

Примечание: данные представлены как «M±m»; где * - p<0,05 при сравнении с группой нормы; ** - p<0,05 при сравнении между группами.

В подгруппе I, по сравнению с подгруппой II, отмечались более высокие показатели абсолютной концентрации КЖК. В профиле C2-C4 кислот снижена доля уксусной кислоты и повышена доля пропионовой и масляной кислоты. АИ был более смещён в область резко отрицательных значений. Отмечалось повышение (iC5/C5) и суммарного показателя изокилот (ΣiCn).

Достоверность изменений параметров КЖК в мокроте между исследуемыми группами больных ХОБЛ и РЛ, а также в зависимости от развития осложнений, подтверждаются результатами регрессионного линейного анализа. При проведении регрессионного линейного анализа с расчетом коэффициента детерминации уровней пропионовой и масляной кислот в мокроте у больных ХОБЛ и РЛ, с развитием осложнений и без осложнений получены следующие уравнения регрессии:

При ХОБЛ: C3 – $y = -0,743 (\pm 0,02)x + 0,757 (\pm 0,01)$, $R^2 = 0,89$; C4 - $y = -0,730 (\pm 0,01)x + 0,740 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,91$;

При РЛ: C3 – $y = -0,644 (\pm 0,01)x + 0,637 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,87$; C4 - $y = -0,630 (\pm 0,02)x + 0,735 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,90$.

При РЛ (с осложнениями): C3 – $y = -0,890 (\pm 0,03)x + 0,894 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,88$; C4 - $y = -0,404 (\pm 0,01)x + 0,411 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,87$;

При РЛ (без осложнений): C3 – $y = -0,791 (\pm 0,02)x + 0,782 (\pm 0,03)$, $R^2 = 0,89$; C4 - $y = -0,362 (\pm 0,02)x + 0,312 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,90$.

Результаты свидетельствуют о достоверности изменений долей пропионовой и масляной кислот в зависимости от изучаемых характеристик.

Достоверность изменений параметров КЖК в кале между исследуемыми группами больных ХОБЛ и РЛ, а также РЛ в зависимости от локализации процесса и развития осложнений подтверждаются результатами регрессионного линейного анализа. При проведении регрессионного линейного анализа уровней пропионовой и масляной кислот в кале у больных ХОБЛ и РЛ, с развитием осложнений и без осложнений получены следующие уравнения регрессии:

При ХОБЛ: C3 – $y = -0,251 (\pm 0,01)x + 0,339 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,89$; C4 - $y = -0,812 (\pm 0,03)x + 0,685 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,90$;

При РЛ: C3 – $y = -0,199 (\pm 0,01)x + 0,298 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,88$; C4 - $y = -0,711 (\pm 0,02)x + 0,621 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,89$.

При РЛ (с осложнениями): C3 – $y = -0,341 (\pm 0,01)x + 0,411 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,90$; C4 - $y = -0,869 (\pm 0,03)x + 0,779 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,86$;

При РЛ (без осложнений): C3 – $y = -0,240 (\pm 0,01)x + 0,329 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,89$; C4 - $y = -0,751 (\pm 0,03)x + 0,672 (\pm 0,02)$, $R^2 = 0,86$.

Результаты свидетельствуют о достоверности изменений долей пропионовой и масляной кислот в кале в зависимости от изучаемых характеристик.

Таким образом, анализ полученных результатов изучения профиля и количества КЖК в мокроте и кале больных РЛ показал следующее. В норме мы выявили крайне низкое содержание абсолютной концентрации КЖК в мокроте, что свидетельствует о малой численности и низкой активности микроорганизмов, населяющих нижние отделы дыхательных путей. Следовательно, доля анаэробных микроорганизмов (в частности бактероидов, фузобактерий и др., продуцирующих пропионовую и масляную кислоты) в НДП в норме незначительна, что согласуется с общепринятыми данными (Бышевский А.Ш., 1994). Установленное повышение абсолютной концентрации КЖК в мокроте у больных ХОБЛ и РЛ свидетельствуют об увеличении численности и активности микроорганизмов в трахеобронхиальном дереве. Анализ качественного содержания КЖК, свидетельствующий о повышении пропионовой и масляной кислот, указывает на активизацию анаэробных микроорганизмов, в частности родов бактероидов, кластридий и фузобактерий, продуцирующих данные кислоты. К этому же выводу приводит анализ значений АИ, свидетельствующий о смещении окислительно - восстановительного потенциала внутриполостной среды в область резко отрицательных значений, при котором жизнедеятельность облигатных анаэробов угнетается (за счет блокирования терминальных ферридоксинсодержащих ферментов), и происходит активизация факультативных анаэробов. Причем более значительные изменения отмечались при РЛ в сочетании с ХОБЛ. Нами был проведен анализ суммарного относительного содержания изокилот и отношения изовалериановой кислоты к валериановой у больных ХОБЛ и РЛ в сочетании с ХОБЛ, и выявлено достоверное повышение показателей во втором случае. Изокилоты образуются в результате действия протеолитиков. Выраженными протеолитическими свойствами обладают аэробы. Можно констатировать повышение активности не только факультативной и облигатной анаэробной микрофлоры, но и активизацию аэробных УПМ. Аэробные УПМ могут существовать при отрицательных значениях АИ. Повышение (изоС5/С5) у пациентов основной группы свидетельствует об активизации аэробных и анаэробных УПМ, обладающих не только протеолитической, но и гемолитической активностью. Это также согласуется с результатами микробиологического исследования мокроты у наших пациентов.

Нами были изучены параметры КЖК в кале у изучаемых групп больных, зависящие также от развития осложнений.

Как было установлено, в микробиоте кишечника в группе онкологических больных с пневмонией, развившейся в послеоперационном периоде, происходят аналогичные (микробиоте лёгких) изменения. У данной группы пациентов оказались более высокими показатели абсолютной концентрации КЖК, по сравнению с группой больных без пневмонии, что указывает на более высокую активность и количество микрофлоры. В профиле С2-С4 кислот снижена доля уксусной кислоты и повышены доли пропионовой и масляной кислот, что связано со снижением количества индигенной микрофлоры, в частности бифидобактерий, лактобацилл, и увеличением численности и активности анаэробной микрофлоры, представленной в основном бактероидами и пропионибактериями. К подобному заключению приводит анализ значений АИ,

свидетельствующий о смещении окислительно - восстановительного потенциала внутриполостной среды в область резко отрицательных значений, способствующей активизации анаэробов. Повышение ($iC5/C5$) свидетельствует об увеличении гемолитической активности микрофлоры, а повышение суммарного показателя изокислот (ΣiCn) свидетельствует об увеличении протеолитической активности, что связано с усилением метаболической активности аэробных УПМ. Динамика параметров КЖК (относительного содержания C2-C4 кислот, значений АИ, суммарного относительного содержания изокислот, отношения $iC5/C5$) в кале была аналогичной динамике в мокроте, что свидетельствовало об идентичных изменениях микробиоценоза в исследуемых биотопах.

Высказанные нами предположения о имеющемся неблагополучии как в микроэкологии дыхательных путей, так и в микроэкологии кишечника на основе анализа профиля и количественного содержания КЖК, подтвердились и данными микробиологического анализа кала на дисбиоз (таблица 8 – 9).

Как показал анализ полученных нами результатов, представленных в данных таблицах, после оперативного вмешательства на фоне проводимой сопроводительной терапии у пациентов I подгруппы отмечена нормализация количества бифидобактерий и лактобактерий, уменьшение выделения лактозонегативных и гемолитических кишечных палочек. У 36,7% пациентов первой подгруппы количество других УПМ не изменилось, но отмечалось увеличение количества *Candida spp.* с 6,7% до 36,7%. После оперативного вмешательства у пациентов II подгруппы микробный статус толстой кишки сохранял свой негативный характер или даже имел тенденцию к усугублению неблагоприятных показателей. Отмечалось дальнейшее снижение количества бифидобактерий и лактобактерий, увеличение содержания лактозонегативных и гемолитических кишечных палочек. Отмечалось увеличение содержания других УПМ с 10% до 43,3%, в то же время отмечалось снижение удельного веса *Candida spp.* с 16,7% до 13,3%. В подгруппе I после комплексного лечения было отмечено снижение выраженности дисбиоза. В этой подгруппе до операции 0 степень дисбиоза отмечена у 3,3%, 1 степень — у 30% пациентов, 1-2 степень — у 23,4%, 2 степень — у 40%, 3 степень — у 3,3%. После операции на фоне сопроводительной терапии 1 степень дисбиоза отмечена у 43,3% пациентов, 1-2 степень — у 36,7%, 2 степень — у 20%, 2-3 степень и 3 степень не зарегистрированы. В подгруппе II после оперативного вмешательства отмечалось нарастание степени выраженности дисбиоза толстой кишки. До операции 1 степень дисбиоза отмечена у 46,7% пациентов, 1-2 степень — у 20%, 2 степень — у 30%, 2-3 степень — у 3,3%. После операции 1 степень дисбиоза отмечена у 20% пациентов, 1-2 степень — у 16,7%, 2 степень — у 50%, 3 степень — у 13,3%. При расчёте с использованием приложения к Excel ХИ2РАСП при сравнении I и II подгрупп после оперативного вмешательства выявлено достоверное различие ($p=0,003$) в увеличении степени выраженности дисбиоза толстой кишки в подгруппе II после оперативного лечения.

Таблица 8 - Частота выявления бактериологических критериев дисбиоза толстой кишки у пациентов I и II подгруппы до и после лечения.

Микроорганизмы	I до		II до		I после		II после		Норма
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Бифидобактерии	<10 ⁸ 26	86,7	<10 ⁸ 29	96,7	<10 ⁸ 24	80	<10 ⁸ 30	100	10 ⁸ -10 ¹⁰
Лактобактерии	<10 ⁶ 22	73,3	<10 ⁶ 21	73,3	<10 ⁶ 19	63,3	<10 ⁶ 28	93,3	10 ⁶ -10 ⁸
<i>E. coli</i> неполноценная	>=10 ⁵ 4	13,3	>=10 ⁵ 8	26,7	>=10 ⁵ 3	10	>=10 ⁵ 11	36,7	<10 ⁵
<i>E. coli</i> гемолитическая	>0 4	13,3	>0 7	23,3	>0 3	10	>0 9	30	0
Условно- патогенные энтеробактерии	>=10 ⁵ 11	36,7	>=10 ⁵ 3	10	>=10 ⁵ 11	36,7	>=10 ⁵ 13	43,3	<10 ⁴
Грибы рода <i>Candida</i>	>=10 ⁵ 2	6,7	>=10 ⁵ 5	16,7	>=10 ⁵ 11	36,7	>=10 ⁵ 4	13,3	<=10 ⁴

Таблица 9 - Распределение больных по степени выраженности дисбиоза до и после лечения в I и II подгруппах.

группа	0		I		I-II		II		II-III		III		всего
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
I до	1	3	9	30	7	23	12	40	0	0	1	3	30
I после	0	0	13	43	11	37	6	20	0	0	0	0	30
II до	0	0	14	47	6	20	9	30	1	3,3	0	0	30
II после	0	0	3	20	5	17	15	50	0	0	4	13	30

Для профилактики инфекции области хирургического вмешательства нами была адаптирована и в дальнейшем использована схема сопроводительной терапии для онкологических больных, ассоциированных с ХОБЛ, которым предстоит оперативное вмешательство на лёгких.

Как основу мы использовали схему сопроводительной терапии, предложенную для больных с колоректальным раком ("МИБ - терапия") (Митрохин С.Д., 2012).

I этап — первая неделя перед операцией и до 10 дней после операции.

А. Терапия биологически активными препаратами:

БАД «Нормоспектрум» — по 1 капсуле 3 раза в день, перорально.

Б. СДК (накануне операции): Канамицин 0,5 г х 4 раза в день, перорально;

Кларитромицин 0,5 г х 2 раза в день, перорально;

Метронидазол 0.5 г х 3 раза в день, перорально.

ПАП данным пациентам проводится интраоперационно антибиотиком цефуроксимом внутривенно по схеме:

Первая доза (1,5 г) за 40-60 мин до начала операции.

Вторая доза (0,75 г) через 8 часов после введения первой дозы.

Третья доза (0,75 г) через 8 часов после введения второй дозы.

II этап — вторая-третья недели после операции.

Терапия биологически активными препаратами по схемам, представленным выше.

Курс — 1-2 недели.

БАД «Нормоспектрум» — представляет собой мультипробиотический комплекс из девяти производственных, лиофильно высушенных живых антагонистически активных штаммов *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.*: *B. bifidum* 1, *B. bifidum* 791, *B. longum* В379М, *B. longum* Я-3, *B. adolescentis* ГО-13, *L. acidophilus* НК-1, *L. acidophilus* КЗш24, *L. plantarum* 8-РА-3, *L. casei* КНМ-12, содержит витамины Е, В₁, рибофлавин, В₆, В₁₂, фолиевую кислоту, пантотеновую кислоту, ниацинамид, биотин, С, цинк, селен. В качестве пребиотика в его состав входит смесь короткоцепочечного и длинноцепочечного инулина.

При расчёте с использованием приложения к Excel ХИ2РАСП достоверных различий в I и II подгруппах до назначения МИБ-терапии выявлено не было ($p=0,09$). При сравнении I и II подгрупп после проведения МИБ-терапии выявлено достоверное различие ($p=0,004$) в изучаемых показателях.

В послеоперационном периоде в подгруппе I основной группы у 8 пациентов диагностированы инфекционные осложнения со стороны бронхолёгочной системы, что составило 25,6% от всех пациентов этой подгруппы. У 4 пациентов развилась пневмония с операционной стороны, из них у одного — после сегментарной резекции, у двух — после лобэктомии и у одного — после билобэктомии. У одного пациента развилась двухсторонняя пневмония после лобэктомии и у трёх — обострение ХОБЛ после лобэктомии. Пневмонии с другой (не оперированной) стороны в послеоперационном периоде не отмечалось. В подгруппе II основной группы инфекционные осложнения со стороны бронхолёгочной системы развились у 16 больных, что составило 53,3% от всех пациентов подгруппы. Двухсторонняя пневмония

после лобэктомии у одного пациента, пневмония с оперированной стороны у десяти, из них у пяти после лобэктомии, у пяти после сегментарной резекции. У пяти пациентов диагностирована пневмония с другой стороны, из них у трёх после пневмонэктомий и у двух после лобэктомий. Обострения ХОБЛ в послеоперационном периоде в этой подгруппе основной группы не отмечалось.

При расчёте с использованием приложения к Excel ХИ2РАСП выявлена достоверная разница в количестве осложнений в подгруппах I и II ($p=0,035$).

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что у больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, отмечается рост удельного веса грамотрицательной микрофлоры в нижних дыхательных путях.
2. Основными патогенами для развития нозокомиальной пневмонии у больных раком лёгких, ассоциированным с ХОБЛ, является грамотрицательная микрофлора за счет таких условно-патогенных микроорганизмов как *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *E. coli*, *Acinetobacter spp.*, *C. freundii*.
3. Показано, что у 100% больных раком легкого, ассоциированного с ХОБЛ, диагностируется дисбиоз кишечника разной степени тяжести.
4. Молекулярными маркёрами риска развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде у больных раком лёгкого, ассоциированного с ХОБЛ, является повышение абсолютной концентрации короткоцепочечных жирных кислот в мокроте и снижение в кале, повышение пропионовой и масляной кислот, снижение содержания уксусной кислоты, смещение АИ в область отрицательных значений, увеличение показателя отношения изокилот к кислотам с неразветвлённой цепью (ZiC_n/C_n , iC_5/C_5), повышение суммарного показателя изокилот в мокроте и кале.
5. Определение короткоцепочечных жирных кислот методом газо-жидкостного хроматографического анализа в различных биологических субстратах может быть использовано в обследовании больных раком легких с диагностической целью, для объективизации микробиологических нарушений, а также для оценки эффективности проводимой терапии.
6. Примененная схема сопроводительной антимикробной и иммунобиологической терапии у больных раком легких, ассоциированным с ХОБЛ, снизила в два раза количество нозокомиальных пневмоний в раннем послеоперационном периоде, что способствовало улучшению качества жизни данной категории онкологических больных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Для прогноза риска развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде у больных раком легких, ассоциированным с ХОБЛ, рекомендуется проводить газо-жидкостной хроматографический анализ продуктов метаболизма микрофлоры нижних дыхательных путей и толстой кишки.
- Определение молекулярных маркёров риска развития нозокомиальной пневмонии в послеоперационном периоде у больных раком легких позволит правильно выбрать группу пациентов для назначения усовершенствованной нами схемы сопроводительной терапии с целью

профилактики нозокомиальных пневмоний и других инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

- Больным раком легких, ассоциированным с ХОБЛ, рекомендуется проводить в до- и послеоперационном периоде сопроводительную антимикробную и иммунобиологическую терапию в соответствии с предложенной нами для этой категории больных схемой сопроводительной терапии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Для расширения представления об этиологической значимости бактерий, выделенных от больных раком легких, ассоциированным с ХОБЛ, необходимо дальнейшее изучение микроорганизмов, являющихся возбудителями нозокомиальной пневмонии, с использованием современных методов масс - спектрометрического и молекулярно-генетического типирования.

Необходимо дальнейшее изучение методом газо-жидкостного хроматографического анализа продуктов метаболизма микрофлоры нижних дыхательных путей и кишечника у больных с онкопатологией для выявления предикторов риска по развитию онкологической патологии респираторного и желудочно-кишечного тракта.

Необходимо дальнейшее изучение феномена транслокации микроорганизмов из кишечника в другие органы и ткани организма для разработки новых методов профилактики нозокомиальных пневмоний у онкологических больных.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Шевцов, В.В.** Разработка протокола сопроводительной терапии в пред- и послеоперационном периоде у больных злокачественными новообразованиями легких на фоне хронической обструктивной болезни и дисбактериоза / В.В. Шевцов, С.Д. Митрохин, Н.П. Забазный, М.И. Попов, А.Н. Махсон // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и онкологии. Национальная онкологическая программа». VII съезд онкологов России; 29-30 октября 2009г. – Москва, 2009. – Т.1. – С. 278.
2. **Шевцов, В.В.** Значимость изучения отдельных метаболитов микрофлоры толстой кишки у больных раком легких, ассоциированным с дисбактериозом, на фоне приема препарата- синбиотика «Нормоспектрум» / В.В. Шевцов, Е.С. Зубкова, С.Д. Митрохин, Н.П. Забазный, А.В. Алешкин // Материалы 2-го Международного конгресса по пробиотикам; 28-30 октября 2009г. – Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2009. - № 4. – М45.
3. 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»; 4-5 апреля 2011г. – Москва, 2011. – С.16 -17.

4. **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.А. Соколов // Материалы X Научно- практической конференции «Внутрибольничные инфекции в стационарах различного профиля, профилактика, лечение осложнений»; 5-6 апреля 2012г. – Москва, 2012. – С. 85 - 86.
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 // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2012. - № 4. – С. 87- 92.
6. Миронов, А.Ю. Диагностическое и прогностическое значение метаболитов микрофлоры в различных биосубстратах у больных раком легкого и ХОБЛ / А.Ю. Миронов, С.Д. Митрохин, М.Д. Ардатская, **В.В. Шевцов** // Клиническая лабораторная диагностика. - 2012. - № 9. - С. 83-84.
7. Ардатская, М. Д. Метоболиты микрофлоры различных биотопов при заболеваниях бронхолегочной системы / М.Д. Ардатская, **В.В. Шевцов**, А.Н. Жакот, И.Н. Феданков, С.Д. Митрохин, А.Ю. Миронов, Е.И. Пономарева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014.- выпуск 103. - № 3. – С. 46 - 54.
8. Жакот, А.Н. Сравнительная характеристика методов бактериологического исследования дыхательных путей у больных злокачественными опухолями легких / А.Н. Жакот, **В.В. Шевцов**, С.Д. Митрохин, Н.П. Забазный, Б.С. Ленский // Материалы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии, 16-18 сентября 2014г. – Казань, 2014.- С. 355.
9. Пономарева, Е.В. Диагностическое значение короткоцепочных жирных кислот в различных биосубстратах при патологии бронхолегочной системы / Е.В. Пономарева, **В.В. Шевцов**, М.Д. Ардатская, В.Е. Ноников // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2014. - №5. - Приложение № 44, (Материалы юбилейной двадцатой объединенной российской гастроэнтерологической недели 6-8 октября 2014г, Москва). - С. 102.
10. Жакот, А.Н. Влияние технологии забора материала на результаты бактериологического исследования у больных со злокачественными опухолями легких / А.Н. Жакот, Д.В. Соколов, С.Д.Митрохин, **В.В. Шевцов**, В.В. Соколов, Б.С. Ленский, А.Н. Махсон // Медицинский совет. – 2016.- № 10. – С. 168 - 173.
11. Ардатская, М.Д. Диагностическое и тактическое значение изучения короткоцепочных жирных кислот в разных биосубстратах у больных хронической обструктивной болезнью легких, раком легкого и внебольничной пневмонией, развившейся при проведении химиотерапии противоопухолевой терапии / М.Д. Ардатская, Е. В. Пономарева, **В.В. Шевцов**, С.А. Евдокимова, С.В. Одинцов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. - № 11. - выпуск 135. – С. 17 - 25.
12. Жакот, А.Н. Результаты бактериологического исследования у больных со злокачественными опухолями легких в зависимости от наличия ХОБЛ и техники забора материала из дыха-

тельных путей / А.Н. Жакот, Д.В. Соколов, С.Д. Митрохин, **В.В. Шевцов**, В.В. Соколов, Б.С. Ленский // Туберкулез и болезни легких. – 2016.- том 94. – С. 39 – 47.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЭ – анаэробный индекс

ГЖХ – газожидкостный хроматографический анализ

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

Изо - С5 – изовалериановая кислота

ИСМП – инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи

КЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

МИБ – микробная и иммунобиологическая терапия

НДП – нижние дыхательные пути

НП – нозокомиальная пневмония

ОФВ₁ – объём форсированного выдоха за первую секунду

ПАП – периоперационная антибиотикопрофилактика

РЛ – рак легкого

СДК – селективная деконтаминация кишечника

С2 – уксусная кислота

С3 – пропионовая кислота

С4 – масляная кислота

С 5 – валериановая кислота

УПМ – условно- патогенные микроорганизмы

ФЖЁЛ – форсированная жизненная ёмкость лёгких

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

GARD– Global alliance against chronic respiratory diseases. Глобальный альянс по борьбе с хроническими респираторными заболеваниями

GOLD – Global initiative for chronic obstructive lung disease, Глобальная инициатива по хронической обструктивной болезни легких