

---

---

# КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

---

---

УДК: 618.19-006.6:615.26:616.31-022:616-073.584

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЛАЗЕРНОЙ ОПТИКО-АКУСТИЧЕСКОЙ СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ДИСБАКТЕРИОЗА У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ХИМИОТЕРАПИИ

**Е.С. Никотин<sup>1</sup>, Е.П. Красноженов<sup>1</sup>, В.Е. Гольдберг<sup>2</sup>, Ю.В. Кистенев<sup>1</sup>,  
Р.Г. Хайруллин<sup>3</sup>, Н.О. Попова<sup>2</sup>, В.А. Фокин<sup>1</sup>, Л.С. Муштоватова<sup>1</sup>**

*ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», г. Томск<sup>1</sup>  
НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск<sup>2</sup>*

*Медико-санитарная часть ОАО «Татнефть», г. Альметьевск<sup>3</sup>  
643050, г. Томск, Московский тракт, 2, e-mail: esnikotin@ngs.ru<sup>1</sup>*

В связи с недостатками существующих методов оценки состояния микрофлоры полости рта рассмотрены возможности использования для этой цели метода лазерной оптико-акустической спектроскопии. Полученные результаты показывают перспективность данного метода для диагностики нарушения микрофлоры.

Ключевые слова: лазерная спектроскопия, микрофлора, дисбактериоз.

LASER OPTICAL-ACOUSTIC SPECTROSCOPY AS A METHOD FOR DISBACTERIOSIS DETECTION IN PATIENTS  
WITH BREAST CANCER UNDER CONDITIONS OF CHEMOTHERAPY

*E.S. Nikotin<sup>1</sup>, E.P. Krasnojenov<sup>1</sup>, V.E. Goldberg<sup>2</sup>, Yu.V. Kistenev<sup>1</sup>,  
R.G. Hairullin<sup>3</sup>, N.O. Popova<sup>2</sup>, V.A. Fokin<sup>1</sup>, L.S. Mushtovatova<sup>1</sup>*

*Siberian State Medical University, Tomsk<sup>1</sup>*

*Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk<sup>2</sup>*

*Medical Department of Tatneft public corporation, Almetevsk<sup>3</sup>*

*2, Moskovsky tract, 634050-Tomsk, e-mail: esnikotin@ngs.ru<sup>1</sup>*

Feasibility of using laser optical-acoustic spectroscopy for evaluating oral cavity microflora has been examined. This method for diagnosis of microflora disorders has been shown to be promising.

Key words: laser spectroscopy, microflora, disbacteriosis.

Длительное применение антибиотиков, иммунодепрессивное влияние опухоли, цитостатические препараты приводят к снижению активности клеточных и гуморальных факторов неспецифической резистентности организма, оказывают угнетающее влияние на функцию отдельных органов и систем у онкобольных [1, 6]. Такое состояние может привести к угнетению колонизационной резистентности, инвазии болезнетворных бактерий, диссеминации очагов эндогенной и экзогенной инфекции, неспецифической бактериемии и сепсису, что значительно ухудшает состояние онкологических больных [4, 7].

Микрофлора полости рта является высокочувствительной индикаторной системой, реагирующей качественными и количественными сдвигами на изменения в состоянии различных органов и систем организма. В полости рта обитают микроорганизмы, которые по своему составу достаточно близки к микрофлоре тонкой кишки, в отличие от микрофлоры фекалий [2, 3]. В настоящее время основным методом оценки состояния микрофлоры различных биотопов является бактериологический анализ, который проводится в соответствии с методическими рекомендациями МЗ СССР (Приказ № 535, 1985). Данный метод

является достоверным, но отличается громоздкой технологией исследования и требует 5–6 сут для получения результата. В связи с этим представляет интерес поиск более оперативных методов выявления нарушений микрофлоры кожи и слизистых оболочек (дисбиозов). Поскольку изменение микрофлоры влечет за собой изменение состава населяющих биотоп микроорганизмов, можно предположить изменение качественного и количественного состава их газовыделений. Одним из наиболее перспективных методов регистрации спектров газовых образцов является лазерный оптико-акустический (ОА) метод. К его достоинствам относятся высокое спектральное разрешение, высокая чувствительность по показателю поглощения, малый объем требуемого образца газа [5].

Целью данной работы является анализ состояния микрофлоры полости рта у больных онкологическими заболеваниями на фоне химиотерапии при помощи лазерной оптико-акустической спектроскопии.

### Материал и методы

Исследования проводились на базе кафедры микробиологии и вирусологии Сибирского государственного медицинского университета и отделения химиотерапии НИИ онкологии СО РАМН. Для лечения рака молочной железы пациенты получали стандартные схемы химиотерапии FAC или AT. Критерии включения пациентов в исследование: пациенты старше 18 лет, подписавшие информированное согласие на участие в исследовании; пациенты, имеющие верифицированный диагноз рака молочной железы, выявленный впервые, не получавшие ранее лечение цитостатиками. Критерии исключения пациентов из исследования: пациенты, получающие в течение 12 мес до включения в исследование массивную антибактериальную терапию.

Исследование включало взятие мазка со слизистой щеки непосредственно перед началом курса химиотерапии и на 7–10-е сут после его окончания. Материал из ротовой полости брали натошак стерильным ватным тампоном, который помещали в стерильную пробирку.

Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам согласно методическим рекомендациям МЗ СССР (Приказ № 535, 1985). При изучении биологических свойств кокковой флоры определяли гемолитическую активность, плазмокоагулазу, лецитиназу. Оценку плазмокоагулазы проводили с плазмой кролика по общепринятой методике, лецитиназу изучали на желточно-солевом агаре, гемолитическую активность исследовали путем посева односуточной культуры на агар с 5 % дефибрированной кровью.

Из пробирок с полученным материалом осуществлялся отбор воздуха в пробоотборник внутривибраторного лазерного оптико-акустического сенсора ILPA-1, регистрирующего спектр поглощения в диапазоне длин волн 9,2–10,8 мкм. Поступившая в приемник прибора газовая проба анализировалась многократно (до 10 сканов спектра поглощения каждой пробы).

### Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что микрофлора ротовой полости больных РМЖ значительно отличалась по качественному составу от микрофлоры пациентов группы сравнения (табл. 1). Так, из ротовой полости женщин, имеющих онкологическую патологию, до лечения цитостатическими препаратами высевались стафилококки (28 %), стрептококки (12 %), энтеробактерии (19 %), нейссерии (1 %), грибы рода Кандида (6 %). У больных РМЖ после химиотерапии большинство микроорганизмов

Таблица 1

### Высеваемость микроорганизмов из ротовой полости больных раком молочной железы (%)

Группы больных	Стафилококки	Стрептококки	Энтеробактерии	Нейссерии	Грибы рода Кандида
До химиотерапии (n=30)	28	12	19	1	6
После химиотерапии (n=60)	55	20	15	0	12

Примечание: процентное содержание микроорганизмов рассчитано на всю группу обследуемых.

Таблица 2

**Биологические свойства кокковой флоры,  
выделенной из ротовой полости больных РМЖ ( $X \pm m$ )**

Группы больных	Гемолиз, мм		Лецитиназа, мм		Плазмокоагулаза, ч	
	Стафилококки	Стрептококки	Стафилококки	Стрептококки	Стафилококки	Стрептококки
До химиотерапии (n=30)	0	0	0	0	7,4 ± 0,5	7,2 ± 0,6
После химиотерапии (n=60)	15,4 ± 0,2	16,3 ± 0,1	7,4 ± 0,5	4,4 ± 0,3	2,5 ± 0,2*	2,3 ± 0,2*

Примечание: \* – различия между группами статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

составляли стафилококки (55 %), увеличена высеваемость грибка Кандида (12 %).

Выделенные из ротовой полости стафилококки и стрептококки подвергались оценке их биологических свойств с целью определения степени патогенности (вирулентности). Для этого проводилось исследование ферментов патогенности: лецитиназы, плазмокоагулазы и гемолитических свойств. Результаты показали, что в группе больных РМЖ кокки из ротовой полости гемолитической и лецитиназной активностью не обладали. Свертывание плазмы кролика они осуществляли более чем за 6 ч. У больных РМЖ после лечения цитостатиками обнаруживали кокки, обладающие достаточно высокой степенью патогенности: зона гемолиза на кровяном агаре у стафилококков была  $15,42 \pm 0,21$  мм, у стрептококков –  $16,33 \pm 0,13$  мм, лецитиназная активность (фосфолипаза) у стафилококков –  $7,44 \pm 0,52$  мм, у стрептококков –  $4,44 \pm 0,28$  мм, стафилококки свертывали плазму в течение  $2,51 \pm 0,18$  ч, стрептококки –  $2,34 \pm 0,17$  ч (табл. 2).

Можно сделать заключение, что у больных РМЖ после химиотерапии обнаруживаются нарушения в составе микрофлоры полости рта, что выражается в смещении микробиоценоза в сторону преобладания условно-патогенной флоры (стафилококки, кандиды). Результаты спектроскопического исследования биопроб некоторых пациентов представлены на рис. 1 и 2.

Сравнительный анализ полученных данных показывает различия газовой выделений биопроб пациентов, взятых до и после лечения химиопрепаратами. Более значимые отличия спектров поглощения наблюдаются на мазках со слизистой оболочки щек. Газовыделения налета зубов также имеют отличия по спектру поглощения, но выражены они в меньшей степени, а если рассмотреть отдельно в отношении пациента 2, то практически неразличимы.

Кроме этого, видно, что уровень поглощения газовой выделений мазка со щек до лечения выше, чем аналогичный показатель после лечения, тогда как в отношении налета зубов можно наблюдать обратную картину. Это можно объ-

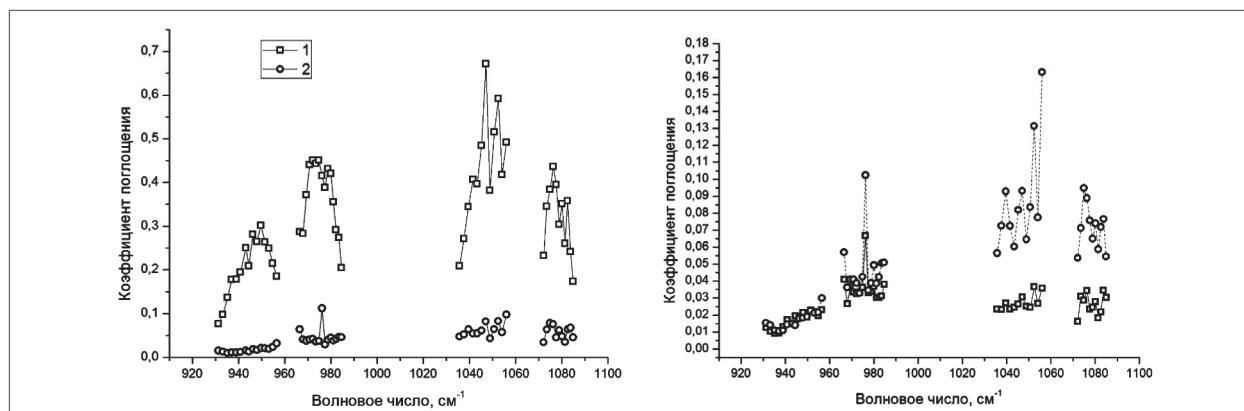


Рис. 1. Спектр поглощения газовой выделений мазка со щек и налета зубов пациента 1: 1 – до курса химиотерапии; 2 – после лечения

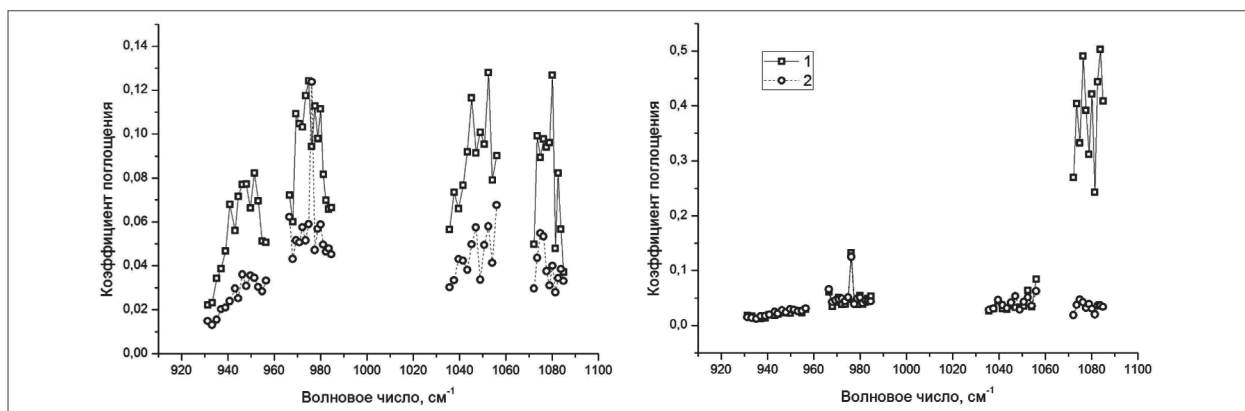


Рис. 2. Спектр поглощения газовойделений мазка со щек и налета зубов пациента 2: 1 – до курса химиотерапии; 2 – после лечения

яснить, во-первых, различным качественным составом микроорганизмов соответствующих биотопов безотносительно лечения, а во-вторых, различиями в физиологической активности микроорганизмов, приводящей к специфическому изменению газовойделений.

### Заключение

Результаты исследований показали, что спектры поглощения газовойделений биопроб, взятых у пациентов до и после лечения, заметно отличаются. Это говорит об изменении газовойделений микрофлоры полости рта, которое, в свою очередь, можно объяснить качественными и количественными изменениями в населяющих данный биотоп микроорганизмах.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ФЦП (з/к № 02.740.11.0083, НШ 871.2008.2), РФФИ (грант № 09-02-99038 р\_офи), АВЦП Министерства образования и науки РФ (грант № 2.1.1/3436).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998. № 8. С. 66–70.
2. Жданова О.С. Механизмы противoinфекционной защиты кожи у больных раком молочной железы в условиях противоопухолевой химиотерапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2005. 16 с.
3. Карпинская Н.П. Колонизационная резистентность слизистой оболочки полости рта у больных раком легкого в условиях противоопухолевой химиотерапии: Дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2006. 112 с.
4. Кашкин К.П., Караев З.О. Иммунологическая реактивность организма и антибиотическая терапия. Л.: Медицина, 1984. 200 с.
5. Применение методов лазерной спектроскопии и нелинейного анализа для исследования медико-биологических объектов: Монография / Под ред. Ю.В. Кистенева. Томск: Изд-во ТПУ, 2007. 286 с.
6. Шендеров Б.А. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998. № 1. С. 61–65.
7. Finland M. Hospital epidemiology: antibiotic usage and control. In: New Criteria for Antibiotic Therapy / Ed. D. van der Waaij, J. Verhoef. Amsterdam, 1979. P. 253–267.

Поступила 1.03.10