

Внутрибронхиальная микробная флора у пациентов с хроническим бронхитом: мишень для терапии N-ацетилцистеином?

G.C. Riise*, S. Larsson*, P. Larsson**, S. Jeansson+, B.A. Andersson++

Внутрибронхиальная микробная флора у пациентов с хроническим бронхитом: мишень для терапии N-ацетил-цистеином? G.C. Riise, S. Larsson, P. Larsson, S. Jeansson, B.A. Andersson. ERS Journals Ltd 1994.

АБСТРАКТ: Хронический бронхит распространен среди курильщиков, часто вместе с рецидивирующими инфекционными обострениями. *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* - патогены, традиционно считающиеся наиболее важными. Было показано, что лечение N-ацетил-цистеином (НАС) снижает количество инфекционных обострений у пациентов с хроническим бронхитом. Механизм, лежащий в основе этого, неизвестен. Мы попытались охарактеризовать интрабронхиальную бактериальную флору у пациентов с хроническим бронхитом в безинфекционный интервал и определить, влияют ли фара-макологические и иммунологические факторы на появление бактерий.

Двадцать два курильщика с необструктивным хроническим бронхитом, 19 курильщиков с хроническим бронхитом и хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и 14 здоровых некурящих людей прошли бронхоскопию. Для получения незагрязненных внутрибронхиальных образцов использовалась защищенная щетка для взятия образцов. Были проведены количественные бактериальные культуры и выделение вирусов.

Значительно положительные бактериальные культуры (>1000 колониеобразующих единиц (КОЕ)-мл-1) были обнаружены только у пациентов. *S. pneumoniae* и *H. influenzae* были обнаружены у пяти пациентов, и только у пациентов без лечения НАС. Наиболее распространенной бактерией был -гемолитический стрептококк. Отрицательные культуры чаще встречались у здоровых контрольных групп. Из всех рассмотренных факторов только прием НАС повлиял на количество бактерий. Значительно меньше пациентов, принимавших препараты НАС, имели положительные культуры (3 из 16), чем в группе пациентов без терапии НАС (15 из 21).

Наши результаты подтверждают, что хронический бронхит у курильщиков приводит к повышенной внутрибронхиальной бактериальной колонизации. Мы также смогли подтвердить, что 1 000 КОЕ-мл-1 является адекватным уровнем отсечения для значительного роста бактерий при использовании защищенной щетки для взятия образцов. Прием препаратов НАС был связан с низким количеством бактерий.

Eur Respir J., 1994, 7, 94-101.

*Департамент легочной медицины, больница Ренстрёма, Гётеборг, Швеция. Департаменты

**Клиническая бактериология, +Клиническая вирусология и ++Клиническая иммунология, Университет Гетеборга, Швеция.

Переписка: G.C. Riise
Департамент легочной
медицины Больница
Ренстрёма
P.O.B. 17301
S-402 64 Гетеборг
Швеция

Ключевые слова:
Бактериология хронический
бронхит иммуноглобулины
фармакология
защищенная щетка для образцов

Получено: 29 января 1993 г.
Принято после доработки 16 июля 1993
года

Это исследование было поддержано грантами Шведского фонда сердца и легких, Шведского медицинского общества, Шведской табачной компании и Медицинского общества Гетеборга.

Хронический бронхит - это распространенное заболевание дыхательных путей, характеризующееся постоянным продуктивным кашлем. Наиболее важным этиологическим фактором является табачный дым. Некоторые курильщики с хроническим бронхитом также приобретают хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ), характеризующуюся необратимой обструкцией дыхательных путей [1]. Доказано, что у курильщиков с хроническим бронхитом поврежден реснитчатый столбчатый эпителий, увеличено количество бокаловидных клеток в крупных и мелких дыхательных путях [2-5] и изменен химический состав слизи [6].

Функциональным результатом является нарушение мукоцилиарного клиренса и продуктивный кашель.

Около трети пациентов с хроническим бронхитом склонны к рецидивирующим инфекционным обострениям, характеризующимся выраженным кашлем, повышенной продукцией мокроты и ее нагноением. Несколько исследований показали, что пероральный прием N-ацетилцистеина может снизить частоту инфекционных обострений у пациентов с хроническим бронхитом [7-11]. Механизм этого неизвестен.

Видами патогенных бактерий, обычно выделяемых из мокроты пациентов с хроническим бронхитом, являются *Streptococcus pneumoniae*, неинкапсулированные *Haemophilus influenzae* и, в некоторой степени, *Moraxella catarrhalis*. Эти бактерии были обнаружены как при обострениях, так и во время ремиссий [12-17]. Результаты этих исследований, однако, должны приниматься с некоторыми оговорками из-за методологических трудностей. Некоторые исследования основаны на культурах отхаркиваемой мокроты, а в другие были включены разнородные группы пациентов. Поэтому внутрибронхиальная микрофлора при хроническом бронхите и ХОБЛ не была хорошо охарактеризована. Одно исследование с использованием транстрахеальной аспирации у пациентов с клинически стабильным хроническим бронхитом и ХОБЛ показало, что 50% пациентов были колонизированы бактериями, принадлежащими к нормальной флоре ротоглотки. *S. pneumoniae* и *H. influenzae* были обнаружены только в небольшом количестве и в немногих пациентах, в то время как у остальных 50% пациентов культуры бактерий были стерильными [18]. Аналогичные результаты были

сообщалось в исследовании с использованием фиброоптической бронхоскопии вместе с защищенной щеткой для взятия образцов (PSB) у пациентов с острыми инфекционными обострениями [19].

Целью настоящего исследования было выявление внутрибронхиальной флоры в двух четко определенных группах курящих пациентов с хроническим бронхитом во время стабильной фазы заболевания и сравнение ее с флорой некурящих здоровых людей. У одной группы пациентов был необструктивный хронический бронхит, а у другой - хронический бронхит и ХОБЛ. Мы пытались определить, могут ли лекарства для дыхательных путей и уровень сывороточного иммуноглобулина влиять на появление бактерий. Также проводилось сравнение между пациентами, имеющими и не имеющими в анамнезе рецидивирующие инфекционные обострения. Для получения материала из крупных бронхов каждого пациента использовалась защищенная щетка для взятия образцов (PSB), и проводилось количественное культивирование бактерий. Поскольку было показано, что вирусная инфекция влияет на внутрибронхиальный рост бактерий у хронических бронхитиков [13, 20, 21], также проводилось выделение вирусов.

Предметы и материалы

Были исследованы три группы испытуемых:

- Четырнадцать здоровых некурящих добровольцев с нормальной спирометрией, не имевших в анамнезе легочных заболеваний и симптомов инфекции верхних или нижних дыхательных путей в течение последних четырех недель.
- Двадцать два курильщика с необструктивным хроническим бронхитом, характеризующимся ежедневным продуктивным кашлем в течение как минимум шести месяцев подряд каждый год в течение последних 2 лет, и нормальной спирометрией. У 12 не было рецидивирующих обострений, а у 10 было два или более инфекционных обострений в год в течение последних 2 лет.
- Девятнадцать курильщиков с хроническим бронхитом и стабильной ХОБЛ (определяемой как объем форсированного дыхания за одну секунду (FEV_1) $<80\%$ прогнозируемого и обратимость) $<15\%$ на₂-агонисты). У 11 человек не было рецидивирующих обострений в анамнезе, а у восьми было два и более инфекционных обострения в год в течение последних 2 лет. Обострение определялось согласно BOMAN *et al.* [8].

Из четырнадцати здоровых некурящих пациентов ни один не принимал никаких регулярных препаратов. Из 22 пациентов с необструктивным хроническим бронхитом пятеро использовали пероральный N-ацетилцистеин (НАС) эпизодически, восемь использовали₂-агонисты для ингаляций спорадически, двое использовали ипратропий бромид для ингаляций эпизодически, и никто не использовал препараты теофиллина или стероиды. Из₂ девятнадцати пациентов с ХОБЛ восемь регулярно использовали пероральный НАС (200 мг два или три раза в день в течение более одного

года), четыре - нерегулярно, восемь - спорадически, а четыре - регулярно использовали ингаляционные стероиды.

Продолжительность симптомов бронхита в группе пациентов варьировалась от 2,5 до 24 лет, в среднем 12,5 лет. Ни у одного пациента не было антибиотикотерапии или симптомов респираторной инфекции в течение последних четырех недель. Критериями исключения были аномальная рентгенограмма грудной клетки, бронхиальная гиперсекреция, вызванная известными факторами, кроме курения сигарет, наличие в анамнезе астмы или ее обратимость

1

Данные по возрасту представлены как среднее значение и диапазон в скобках. Данные по FEV₁ и потреблению сигарет представлены как среднее±SEM. ХБ: хронический бронхит; ХОБЛ: хроническая обструктивная болезнь легких; FEV₁ : форсированный объем выдоха за одну секунду.

>10% на₂-агонисты, и лечение антибиотиками в течение последних четырех недель. Из соображений безопасности также были исключены пациенты с FEV₁ <50% прогнозируемого, или возрастом >70 лет. Вентиляторная функция легких (FEV₁) измерялась с помощью спирометра Бернштейна или виталографа (таблица 1).

Средний возраст и среднее максимальное значение FEV₁ (в процентах от прогнозируемой нормы) существенно не отличались между здоровыми людьми и пациентами с необструктивным хроническим бронхитом. Пациенты с хроническим бронхитом и ХОБЛ были значительно старше, чем здоровые контрольные группы, и имели более низкий FEV₁, чем здоровые контрольные группы и пациенты с необструктивным хроническим бронхитом. История курения в двух группах с хроническим бронхитом была сопоставимой (таблица 1).

План исследования был одобрен Комитетом по этике Гетеборгского университета, и испытуемые дали свое согласие после письменного и устного информирования.

Методы

Бронхоскопия

Для получения неконтаминированных бактериальных культур из нижних дыхательных путей соблюдались процедуры, описанные WIMBERLEY и соавторами [22]. Премедикация проводилась с помощью галоперидола, 5 мг перорально, затем 0,5-1 мл морфинскополамина внутривенно. 5 мл 1% тетракаина без консерванта распыляли с помощью небулайзера под давлением (Plug-in inhalator, Aiolos systems, Карлстад, Швеция) и вдыхали в вертикальном положении для местной анестезии. Все бронхоскопии проводились трансорально одним из двух опытных бронхоскопистов, при этом пациент находился в положении лежа. Использовались гибкие фиброоптические бронхоскопы Olympus нескольких моделей. У каждого пациента был взят один бронхиальный образец, и все пациенты находились в безинфекционном интервале заболевания.

Не используя внутренний канал для отсасывания секрета, во время бронхоскопии брали биопсии для выделения бактерий и вирусов с помощью телескопической щетки для взятия образцов, защищенной двойным катетером (Microvasive catheter)			
Возраст лет	46 (26-66)	52 (36-68)	57 (38-70)
FEV ₁ % pred	101±1	92±2	62±2
Курительная пачка в годах	0	36±2	44±4

по. 1650) [22]. Под непосредственным контролем внутренний катетер СОВ продвигался на 3-4 см в нижнюю часть трахеи, затем удалялась защитная пробка, и щетка продвигалась в один из главных бронхов для взятия образца. Щетку рассекали стерильными ножницами и помещали в стеклянный флакон с завинчивающейся крышкой, содержащий 1 мл жидкой транспортной среды [23]. Образец в течение 2 ч доставлялся в микробиологическую лабораторию и обрабатывался там.

лировали на культуры эмбриональных фибробластов легких человека, почек зеленых мартышек (ГМК)-АН1, А549 и Мадина.

Микробный анализ

Кисть энергично встряхивали в пробирке объемом 1 мл с транспортной средой. Это дает разведение примерно 1:100 (данные не показаны). Из среды 0,1 мл помещали на каждую из аэробных и анаэробных пластин кровяного агар, а также на селективные среды для *H. influenzae* и стрептококков. Пластины инкубировали в 5% CO₂ при 35-37°C в течение 48 ч. Для идентификации бактерий использовали обычные бактериологические методы [24].

Возможное влияние тетракаина на рост *H. influenzae* и *S. pneumoniae* на твердых средах было проверено в контрольном эксперименте. Бумажный диск, пропитанный 10 мкл тетракаина (10 г-л-1), помещали на агаровую поверхность чашек Петри, засеянных *H. influenzae* или *S. pneumoniae*. Ингибирования роста бактерий обнаружено не было. Это согласуется с результатами предыдущих исследований лидокаина, в которых не было обнаружено значительного отрицательного влияния на рост бактерий [25, 26].

В контрольном эксперименте способность СОВ удерживать бактерии проверяли с помощью штамма *H. influenzae* ATCC 8468 и штамма *S. pneumoniae* CCUG 23261. Кисточку окунали в суспензию примерно ¹⁰⁶ колониеобразующих единиц (КОЕ)-мл-1 каждого штамма бактерий, затем переносили в транспортную среду и встряхивали. Делалось серийное разведение, и каждое разведение высевалось на кровяной агар. После инкубации в течение ночи количество жизнеспособных бактерий составляло около ¹⁰³ КОЕ-мл-1 (данные не показаны). Это дает приблизительную оценку коэффициента разведения примерно 1:1 000, что согласуется с предыдущими публикациями, в которых проверялась способность СОВ к накоплению бактерий [22].

Все количества колоний были выражены в пересчете на 1,0 мл образца, полученного в лаборатории. Ранее определенный уровень отсечки, определяющий значительный рост бактерий в образце PSB, составлял 1 000 КОЕ-мл-1 [27-30].

Остальная транспортная среда анализировалась в вирусологическом отделении для культивирования вирусов и выделения вирусных антигенов следующих вирусов: *influenzae A* и *B*, *parainfluenzae* 1-3, аденовируса и респираторно-синцитиального вируса.

Вирусный анализ

Выделение и идентификацию вируса проводили, как описано ранее [31]. Вкратце, образцы иноку-

98 Клетки собачьей почки Дарби (MDCK). Культуры инкубировали в течение двух недель с еженедельной сменой основной среды. Ж. К. Риз и др. таких как *S. pneumoniae* (обнаружены у трех пациентов), были обнаружены у трех пациентов.

Для выявления антигена респираторно-синцициального вируса (РСВ) использовали тестпак RSV компании ABBOT (Abbot Diagnostics Division, Северный Чикаго, Иллинойс, США) в соответствии с инструкциями производителя. Вирусные антигены гриппа А и В, парагриппа 1-3 и аденовируса определяли в твердофазном иммуноферментном анализе, как описано SARKKINEN и соавторами [32-34].

Определение иммуноглобулинов

Уровень иммуноглобулинов G, M и A (IgG, IgM и IgA), а также подклассов IgG в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии. Использовали поликлональные кроличьи античеловеческие IgG, IgM и IgA (Dakopatts a/s, Produktionsvej 42, Glostrup, Denmark) и моноклональные антитела, специфичные для четырех подклассов IgG (Oxoid Unipath Ltd, Wade road Basingstoke, Hampshire, UK). Концентрацию иммуноглобулинов и подклассов IgG выражали в г-л-1, сравнивая со стандартом.

Статистика

Количество бактерий, выделенных из СОВ, выражается в кфу-мл-1 транспортной среды. Другие результаты оценивались с помощью среднего арифметического и стандартного отклонения (SD). Для сравнения числовых данных использовали тест ранговой корреляции Спирмена. Сравнение пропорций результатов между группами проводилось с помощью точного теста Фишера. Пошаговый логистический регрессионный анализ был проведен в двух группах пациентов для сравнения результатов количественных бактериальных культур по отношению к фармакологическим и иммунологическим факторам.

Результаты

Бактериологические результаты

Структура интрабронхиальных бактериальных изолятов была различной между пациентами и контролем (рис. 1). Изоляты со значительным ростом (>1000 КОЕ-мл-1) были обнаружены у 10 из 37 пациентов, в то время как ни у одного из 13 контрольных пациентов не было значительного роста ($p<0,05$) (таблица 2). В нижнем диапазоне (<1000 КОЕ-мл-1) не было обнаружено различий между двумя группами пациентов и контрольной группой (таблица 2 и рис. 1).

Отрицательные культуры (определяемые как <10 КОЕ-мл-1 в буфере транс-порта) чаще встречались в контроле (7 из 13), чем у пациентов с необструктивным хроническим бронхитом (7 из 19) или хроническим бронхитом и ХОБЛ (6 из 18), однако разница не была статистически значимой. Культуры известных респираторных патогенов,

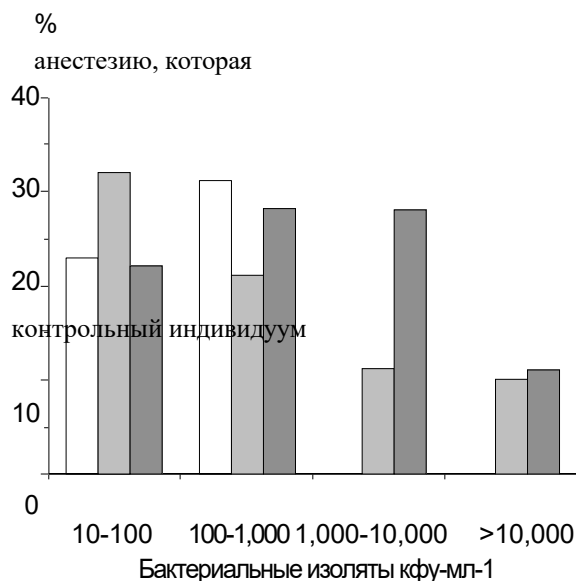


Рис. 1. - Процент лиц (здоровых, больных хроническим бронхитом и ХОБЛ) с бактериальными изолятами в интервалах в соответствии с количеством колониеобразующих единиц (cfu-мл-1). Ни у одного из здоровых людей не было обнаружено >1000 КОЕ-мл-1; : здоровый контроль (n=13); : хронический бронхит (n=19); : хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) (n=18).

при 30, 200 и 50 000 КОЕ-мл-1, соответственно), и *H. influenzae* (у двух пациентов при 250 и 30 000 КОЕ-мл-1, соответственно) были редкостью и встречались только у пациентов. *Moraxella catarrhalis* не была обнаружена ни в одной культуре. Наиболее частой группой бактерий оказались -гемолитические стрептококки. Они были обнаружены в восьми необструктивных пациентов (где у двух было значительное количество), и у 11 обструктивных пациентов (где у пяти было значительное количество). В шести контрольных группах были обнаружены -гемолитические стрептококки, но только в небольшом количестве.

Культуры дифтерийных палочек показали такую же тенденцию к увеличению количества в группах пациентов, как и результаты по гемолитическим стрептококкам (таблица 2).

Одна культура от контрольного человека была исключена из-за контаминации во время обработки после бронхоскопии. Культуры четырех пациентов были исключены

(необходимо было провести дополнительную местную

повышало риск загрязнения бронхиального дерева до того, как можно было взять культуры).

Вирусологические результаты

Среди пациентов все попытки выделения вируса и обнаружения антигена были отрицательными. Один

был положительным на респираторно-синцитиальный вирус только при обнаружении антигена.

Количественные уровни сывороточных иммуноглобулинов и их подклассов

Статистически значимо более низкие средние уровни IgG были обнаружены как у пациентов с необструктивным хроническим бронхитом ($p<0,01$), так и у пациентов с хроническим бронхитом и ХОБЛ ($p<0,05$) по сравнению со здоровым контролем (таблица 3). Низкие средние уровни субклассов IgG наблюдались для IgG1 в группе необструктивного хронического бронхита ($p<0,05$) и для IgG2 как у пациентов без обструкции ($p<0,01$), так и у пациентов с ХОБЛ ($p<0,01$) (таблица 4).

Таблица 3. - Количественные уровни сывороточных иммуноглобулинов в контроле и у пациентов

Предметы	IgG г-л- 1	IgA г-л- 1	IgM г-л- 1
Здоровые некурящие люди	13.2 (2.1)	2.8 (1.0)	1.7 (0.5)
ХБ без ХОБЛ	10.5 (3.1)**	1.9 (0.9)**	1.6 (0.9)
КБ с ХОБЛ	11.1 (3.2)*	2.7 (1.0)	2.1 (1.5)

Данные представлены как среднее значение и SD в скобках.

*: $p<0,05$ между средним значением пациента и средним значением здорового; **: $p<0,01$ между средним значением пациента и средним значением здорового. IgG, IgA и IgM: иммуноглобулины G, A и M. Другие сокращения см. в легенде к таблице 1.

Таблица 2. - Количество бактериальных изолятов в культурах из бронхов контрольной группы и пациентов

	ХБ без ХОБЛ n=19	КБ с ХОБЛ n=18	Здоровый контроль n=13
Бактериальные виды			
<i>S. pneumoniae</i>	1 (1)	1 (2)	(0)
<i>H. influenzae</i>	1 (2)	(0)	(0)
<i>M. catarrhalis</i>	(0)	(0)	(0)
-гемолитические стрептококки	2 (8)	5 (11)	(6)
Коагулазоотрицательные стафилококки	1 (5)	1 (2)	(3)
<i>S. aureus</i>	(0)	(0)	(1)
Дифтерийные стержни	1 (2)	2 (7)	(0)
Другое*	1 (3)	3 (3)	(2)

Образцы с

Цифры, выделенные жирным шрифтом, обозначают значительные бактериальные изоляты ($>1\ 000$ КОЕ-мл-1). Цифры в скобках обозначают общее количество бактериальных культур, как в значимом, так и в незначимом диапазоне. *: *Haemophilus parainfluenzae*, стрептококк типа B, два штамма *Neisseria* spp.; **: <10 cfu-мл-1 в транспортном буфере. Сокращения см. в легенде к таблице 1.

Таблица 4. - Количественные уровни субкласса иммуноглобулина G в сыворотке крови в контроле и у пациентов

Предметы	IgG1 г-л-1	IgG2 г-л-1	IgG3 г-л-1	IgG4 г-л-1
Здоровые некурящие	7,8 (2,6)	5,5 (2,2)	0,8 (0,5)	0,5 (0,3)
КБ без ХОБЛ	6,2 (2,2)*	3,5 (0,8)**	0,6 (0,3)	0,4 (0,3)
КБ с ХОБЛ	6,5 (2,9)	3,5 (1,5)**	0,8 (0,5)	0,4 (0,2)

Данные представлены как среднее значение и SD в скобках.
*: $p < 0,05$ между средним значением пациента и средним значением здорового человека; **: $p < 0,01$ между средним значением пациента и средним значением здорового человека. Сокращения см. в легендах к таблицам 1 и 3.

Не было обнаружено дефицита ни общего уровня IgG, ни IgA, ни IgM в сыворотке крови. Однако, используя референсные диапазоны субклассов IgG из материала нормальной популяции, опубликованного OXELIUS [35], мы обнаружили шесть субъектов с дефицитом IgG1 ($< 4,2$ г-л-1), все в двух группах пациентов. Дефицита IgG2 ($< 1,2$ г-л-1) обнаружено не было. Восемь случаев дефицита IgG3 ($< 0,4$ г-л-1), шесть в группах пациентов и два среди здорового контроля. Различия в количестве...

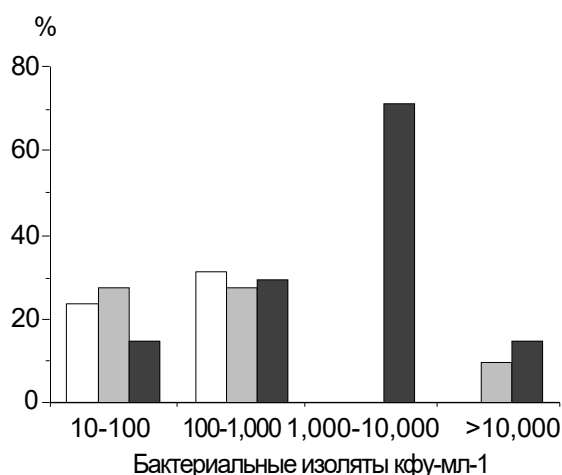


Рис. 2. - Процентное соотношение лиц (здоровых, пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) с лечением и без лечения N-ацетилцистеином (НАС)) с бактериальными изолятами в интервалах в соответствии с количеством колониеобразующих единиц (cfu-мл-1). У пациентов, принимавших НАС, количество бактерий было низким. : здоровый контроль (n=13); : ХОБЛ и НАС (n=11); : ХОБЛ и без НАС (n=7).

ности субклассов между группами пациентов не были статистически значимыми. Различий в уровнях иммуноглобулинов между двумя группами пациентов с рецидивирующими обострениями и без них не было.

Анализ возможных факторов, изменяющих бактериальную флору у пациентов

Для анализа влияния возраста, длительности симптомов бронхита, уровня иммуноглобулинов и курения пациентов на внутрибронхиальную бактериальную флору был использован тест ранговой корреляции Спирмена. Значимой ковариации между перечисленными факторами и количественным ростом бактерий обнаружено не было. Пошаговый логистический регрессионный анализ был проведен для анализа результатов значительного роста в отношении возраста, продолжительности симптомов бронхита, уровня иммуноглобулинов, привычки курения, группы пациентов, приема препаратов НАС и других лекарств для дыхательных путей. Только препарат НАС оказался независимым объясняющим фактором, влияющим на результаты бактериологических исследований. Он был связан с низким количеством бактерий, причем эффект был наиболее выражен у пациентов с ХОБЛ ($p < 0,01$). Эта разница между пациентами с ХОБЛ, получавшими и не получавшими лечение НАС, показана на рисунке 2.

Пациенты, принимавшие пероральные препараты НАС, не отличались по возрасту, привычкам курения или FEV₁ от пациентов, не принимавших НАС (данные не показаны). Точный тест Фишера был использован для сравнения значимых бактериальных культур в двух группах пациентов в зависимости от приема препарата НАС. При сравнении результатов общего количества изолятов со значительным числом бактерий в двух группах пациентов, принимая во внимание индивидуальный прием препарата НАС, было обнаружено 15 изолятов у 21 пациента без приема НАС и только три у 16 пациентов с приемом НАС ($p < 0,01$) (таблица 5). Это различие также можно было продемонстрировать при сравнении числа лиц с одной или более значительными положительными культурами в каждой группе (девять из 21 по сравнению с одним из 16, $p < 0,05$).

У пациентов с хроническим бронхитом и ХОБЛ у одного пациента из 11, использующих НАС, были обнаружены культуры $> 1\ 000$ КОЕ-мл-1, в то время как у пациентов без НАС

Таблица 5. - Количество значимых бактериальных изолятов ($< 1\ 000$ КОЕ-мл-1) в культурах из бронхов пациентов с хроническим бронхитом

Бактериальные виды	СВ без COPDCB с COPD			
	Нет НАС n=14	С НАС n=5	Нет НАС n=7	С НАС n=11
<i>S. pneumoniae</i>	0	0	1	0
<i>H. influenzae</i>	1	0	0	0
-гемолитические стрептококки	2	0	4	1*
Коагулазоотрицательные стафилококки	1	0	1	0

Дифтероидные стержни	ж. к. риз и др.	0	1	1*
Другое	1	0	2	1*

Результаты представлены с учетом приема N-ацетилцистеина (НАС). Аббревиатуры см. в легенде к таблице 1. *: один пациент с культурами трех видов бактерий >1 000 КОЕ-мл-1.

Таблица 6. - Количество значимых бактериальных изолятов (>1000 КОЕ-мл-1) в культурах из бронхов пациентов с хроническим бронхитом с ХОБЛ и без нее

Бактериальные виды	Нет NAC		С NAC	
	Ехас n=9	Без эксака n=6	Ехас n=12	Без эксака n=10
<i>S. pneumoniae</i>	1	0	0	0
<i>H. influenzae</i>	0	1	0	0
-гемолитические стрептококки	3	3	1*	0
Коагулазоотрицательные стафилококки	0	3	0	0
Дифтероидные стержни	1	1	1*	0
Другое	3	0	1*	0

Результаты представлены с учетом приема N-ацетилцистеина (NAC) и наличия в анамнезе пациента рецидивирующих инфекционных обострений (Ехас). *: один пациент с культурами трех видов бактерий >1 000 КОЕ-мл-1.

У пяти из семи пациентов были обнаружены бактериальные культуры с >1000 КОЕ-мл-1. Эта разница была статистически значимой ($p<0,01$).

Аналогичная тенденция, хотя и не статистически значимая, наблюдалась у пациентов с необструктивным хроническим бронхитом и приемом препаратов NAC по сравнению с пациентами без таковых (таблица 5). При сравнении количества значимых бактериальных культур из двух групп пациентов с историей рецидивирующих инфекционных обострений и без них, статистически значимых различий не наблюдалось. Это также было верно, когда учитывался эффект NAC (таблица 6).

последние виды бактерий встречались чаще. Маловероятно, что обнаружение орофарингеальных бактерий в значительном количестве (>1000 КОЕ-мл-1) в бронхах пациентов могло быть связано с бронхоскопической контаминацией. Как тщательная техника отбора образцов, так и выраженные различия в количестве бактерий между пациентами и контрольной группой, несмотря на однородность образцов.

Обсуждение

В настоящем исследовании мы использовали модель, описанную WIMBERLEY и соавторами [22, 27], для получения репрезентативных, незагрязненных бактериальных культур из нижних дыхательных путей. Степень колонизации измерялась с помощью количественного бактериального куль- тура, а ранее определенный уровень отсечения в 1 000 КОЕ-мл-1 указывал на значительный рост бактерий в образце ОВ [27-30]. В соответствии с предыдущими отчетами, в здоровых контрольных группах были обнаружены культуры только с уровнем <1 000 КОЕ-мл-1 (рис. 1). Культуры с >1 000 КОЕ-мл-1 были обнаружены только у больных. Таким образом, наши результаты подтверждают, что 1 000 КОЕ-мл-1 является адекватным уровнем отсечения для значительного роста бактерий при использовании СОВ.

Мы также смогли подтвердить более ранние сообщения о том, что хронический бронхит у курильщиков приводит к увеличению бактериальной колонизации. Значительно больше пациентов по сравнению с контрольной группой имели бактериальные находки выше уровня отсечки. Бактерии, культивированные в настоящем исследовании, включали известные респираторные патогены *H. influenzae* и *S. pneumoniae*, а также других представителей нормальной флоры ротоглотки, таких как гемолитические стрептококки и дифтероидные палочки. Фактически, эти

процедура взятия материала говорит о том, что контаминация исключена. Кроме того, наши результаты сходны с другими сообщениями, в которых большое количество ротоглоточных бактерий было выделено у пациентов с хроническим бронхитом, как в безинфекционные интервалы [14, 18], так и во время обострений [19, 36]. Нельзя исключить, что колонизация бронхов большим количеством орофарингеальных бактерий, включая виды, традиционно считающиеся безвредными, может иметь патогенное значение при хроническом бронхите и ХОБЛ. Мы не нашли более ранних исследований вирусного воспаления при хроническом бронхите в период без обострений. В настоящем исследовании мы не обнаружили вирусов. Однако вирусные инфекции были связаны с обострениями хронического бронхита [13, 20, 21].

Неизвестно, почему у некоторых пациентов с хроническим бронхитом развиваются рецидивирующие инфекционные обострения. В данном исследовании изучались две возможности. Во-первых, пациенты с историей обострений в свободном от инфекций интервале имеют другую картину внутрибронхиальной бактериальной колонизации, чем пациенты без обострений. В нашем исследовании таких признаков не было. Во-вторых, в качестве объяснения рассматривался дефицит иммуноглобулина. Дефицит IgG и IgA, а также некоторых подклассов IgG был связан с хроническими инфекциями дыхательных путей [37, 38]. Несмотря на то, что в нашем исследовании было обнаружено несколько пациентов с дефицитом IgG1 и IgG3, внутрибронхиальная бактериальная флора этих людей не отличалась от флоры остальных пациентов. Мы обнаружили статистически значимое снижение средних значений IgG, IgG1 и IgG2 у пациентов с хроническим бронхитом и ХОБЛ по сравнению с контрольной группой. Однако клиническое значение этого факта остается неясным.

Интересным результатом стало то, что соотношение значимых интрабронхиальный рост бактерий был ниже у пациентов с хроническим бронхитом, получавших пероральный прием препарата НАС, чем у пациентов без этой терапии. Разница была наиболее выражена у пациентов с ХОБЛ и статистически значима даже при относительно небольшом количестве пациентов. Для 11 пациентов с ХОБЛ, принимавших препараты НАС, это было настолько очевидно, что результаты их бактериальных культур почти полностью совпадали с результатами 13 здоровых контрольных пациентов (рис. 2). У семи пациентов ХОБЛ, не принимавших НАС, внутрибронхиальная флора была похожа на группу необструктивного хронического бронхита, где только

меньшинство (пять из 19) пациентов использовали НАС, причем нерегулярно. Положительные культуры *H. influenzae* и *S. pneumoniae* встречались только у пациентов, не принимавших НАС. Анализ факторов пациентов показал, что пациенты, принимавшие пероральные препараты НАС, не отличались значимо по возрасту, привычкам курения или FEV₁ от пациентов без НАС.

Несколько исследований показали, что пероральный прием препаратов НАС может снизить частоту инфекционных обострений и количество потерянных на работе дней у пациентов с хроническим бронхитом [7-11]. Механизм, лежащий в основе этого, остается неясным. Наши результаты предполагают.

выявить влияние НАС на внутрибронхиальный рост бактерий. Ранее мы получили результаты, показывающие, что НАС оказывает негативное влияние на адгезивную способность бактерий, что указывает на это как на возможный механизм снижения обострения [39]. Это также было показано NIEDERMAN и др. [40]. Антиадгезивное действие НАС, возможно, уменьшает количество бактерий в ротоглотке - потенциальном резервуаре для инфекций в бронхах. Прямое воздействие на бактерии в слизистой оболочке бронхов более маловероятно, поскольку НАС не был обнаружен в бронхоальвеолярной лаважной жидкости или плазме после перорального приема [41, 42]. Эти результаты, предполагающие вмешательство НАС в рост бактерий, также усложняют интерпретацию данных более ранних исследований, где возможно одновременное лечение...

мента с НАС не было описано. Представляется, что естественной бактериальной флоры у пациентов с хроническим бронхитом следует изучать только у субъектов, не принимающих НАС.

Подводя итог, можно сказать, что данное исследование показывает, что пациенты с хроническим бронхитом чаще колонизируются внутри бронхов, чем здоровые люди. Наши данные указывают на то, что уменьшающий обострение эффект препаратов НАС может быть связан с влиянием на бактериальную флору. Этот вывод нуждается в дальнейшей оценке в контролируемом исследовании.

Ссылки

- Совет МР. - Определение и классификация хронического бронхита для клинических и эпидемиологических целей. *Lancet* 1965; 775-781.
- Рейд Л. - Измерение слоя бронхиальных желез: диагностический критерий при хроническом бронхите. *Thorax* 1960; 15: 132-141.
- Watson JHL, Brinkman GL. - Электронная микроскопия эпителиальных клеток нормального и бронхиального бронха человека. *Am Rev Respir Dis* 1964; 90(6): 851-855.
- Сальвато Г. - Некоторые гистологические изменения при хроническом бронхите и астме. *Thorax* 1968; 23: 168-172.
- Mullen BJ, Wright JL, Wiggs BR, Paré PD, Hogg JC. - Structure of central airways in current smokers and ex-smokers with and without mucus hypersecretion: relationship to lung function. *Thorax* 1987; 42: 843-848.
- Wanner A. - Состояние техники: клинические аспекты мукоцилиарного транспорта. *Am Rev Respir Dis* 1983; 64: 405-415.
- McFarlane JT. - Пероральный N-ацетилцистеин и частота обострений у пациентов с хроническим бронхитом и тяжелой обструкцией дыхательных путей. *Thorax* 1985; 40: 832-835.
- Parr GD, Huitson A. - Пероральный Фаброл (пероральный N-ацетилцистеин) при хроническом бронхите. *Br J Dis Chest* 1987; 81: 341-348.
- Rasmussen JB, Glennow C. - Уменьшение количества дней болезни после длительного лечения таблетками N-ацетилцистеина с контролируемым высвобождением у пациентов с хроническим бронхитом. *Eur Respir J* 1988; 1: 351-355.
- Tager I, Speizer FE. - Роль инфекции в хроническом бронхите. *N Engl J Med* 1975; 292: 563-571.
- Gump DW, Phillips CA, Forsyth BR, McIntosh K, Lamborn KR, Stouch WH. - Роль инфекции в хроническом бронхите. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113: 465-474.
- Haas H, Morris JF, Samson S, Kilbourn JP, Kim PJ. - Бактериальная флора дыхательных путей при хроническом бронхите: сравнение транстрахеального, фибробронхоскопического и орофарингеального методов отбора проб. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116: 41-47.
- Schreiner A, Bjerkestrand G, Digraanes A, Halvorsen FJ, Kommedal TM. - Bacteriological findings in the transtracheal aspirate from patients with acute exacerbations of chronic bronchitis. *Инфекция* 1978; 6: 54-56.
- McLeod DT, Ahmad F, Power JT, Calder MA, Seaton A. - Бронхолегочная инфекция, вызванная *Branhamella catarrhalis*. *Br Med J* 1983; 287: 1446-1447. Ходош С. - Острые бактериальные обострения при бронхите и астмой. *Am J Med* 1987; 82: 154-163.
- Dis 1977; 116: 73-125.
- Многоцентровая исследовательская группа. - Длительный пероральный прием ацетилцистеина при хроническом бронхите. Двойное слепое контролируемое исследование. *Eur J Respir Dis* 1980; 61 (Suppl. 111): 93-108.
- Боман Г, Беккер У, Ларссон С, Меландер Б, Воландер Л. - Пероральный ацетилцистеин снижает частоту обострений при хроническом бронхите: отчет об испытании, организованном организацией

106. Irwin RS, Erickson AD, Pratter MR, et al. К. РИЗ И ДР.
Прогнозирование трахеобронхиальной колонизации у курильщиков с хроническим обструктивным бронхитом. *J Infect Dis* 1982; 145(2): 234-241.
19. Fagon J-Y, Chastre J, Troillet J-L, et al. - Характеристика микрофлоры дистальных бронхов во время обострения хронического бронхита. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 1004-1008.
20. Buscho RO, Saxtan D, Schulz PS, Finch E, Mufson MA. - Инфекции вирусами и *Mycoplasma pneumoniae* во время обострений хронического бронхита. *J Infect Dis* 1978; 137(4): 377-383.
21. Ellis DA, Anderson IME, Stewart SM, Calder J, Crofton JW. - Обострения хронического бронхита: экзогенная или эндогенная инфекция? *Br J Dis Chest* 1978; 72: 115-121.
22. Уимберли Н., Фалинг Л.Дж., Бартлетт Дж.Дж. - Метод фиброоптической бронхоскопии для получения незагрязненных выделений нижних дыхательных путей для бактериальной культуры. *Am Rev Respir Dis* 1979; 119: 337-343.
23. Andersson B, Beachey EH, Tomasz A, Toumanen E, Svanborg-Eden C. - Сэндвич-адгезин *Streptococcus pneumoniae* прикрепляется к эпителиальным клеткам ротоглотки человека *in vitro*. *Microbiol Pathogen* 1988; 4: 267-278.
24. Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. - In: Руководство по клинической бактериологии. Вашингтон, округ Колумбия, Американское общество микробиологии, 1991.
25. Уимберли Н., Вилли С., Салливан Н., Бартлетт Дж. Дж. - Антибактериальные свойства лидокаина. *Chest* 1979; 76: 37-40.
26. Kirkpatrick MB, Bass JB. - Количественная бактериальная культура жидкостей бронхоальвеолярного лаважа и образцов защищенного щеточного катетера у нормальных людей. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 546-548.
27. Wimberley NW, Bass JB, Boyd BW, Kirkpatrick MB,

- Serio RA, Pollock HM. - Использование бронхоскопической щетки с защищенным катетером для диагностики легочных инфекций. *Chest* 1982; 81: 556-562.
28. Поллок НМ, Хокинс ЕЛ, Боннер JR, Спаркман Т, Басс JB. - Диагностика бактериальных легочных инфекций с помощью количественных защищенных катетерных культур, полученных во время бронхоскопии. *J Clin Microbiol* 1982; 17: 255-259.
29. Winterbauer RH, Hutchinson JF, Reinhardt GN, et al. - Использование количественных культур и окраски бактерий антителами для диагностики бактериальной пневмонии с помощью волоконно-оптической бронхоскопии. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 98-103.
30. Fagon J-Y, Chastre J, Hance AJ, et al. - Выявление нозокомиальной легочной инфекции у вентилируемых пациентов. Использование защищенной щетки для взятия образцов и количественных методов культивирования у 147 пациентов. *Am Rev Respir Dis* 1988; 138: 110-116.
31. Lennette EH, Halonen P, Murphy FA. - In: Viral, Rickettsial and Chlamydial Diseases. Springer-Verlag, 1988. p. 120-250
32. Sarkkinen HK, Halonen PE, Salmi AA. - Обнаружение вируса гриппа А радиоиммуноанализом и иммуноферментным анализом из носоглоточных образцов. *J Med Virol* 1981; 7: 213-220.
33. Sarkkinen HK, Halonen PE, Arstila PP, Salmi AA. - Обнаружение антигенов респираторно-синцитиального, парагриппа типа 2 и аденовируса с помощью радиоиммуноанализа и иммуноферментного анализа в носоглоточных образцах от детей с острыми респираторными заболеваниями. *J Clin Microbiol* 1981; 13: 258-265.
34. Sarkkinen HK, Halonen PE, Salmi AA. - Типоспецифическое выявление вирусов парагриппа с помощью иммуноферментного анализа.
- анализ и радиоиммуноанализ в носоглоточных образцах пациентов с острыми респираторными заболеваниями. *J Gen Virol* 1981; 56: 49-57.
35. Окселиус В-А. - Уровни подклассов IgG в младенчестве и детстве. *Acta Paediatr Scand* 1979; 68: 23-27.
36. Bjerkestrand G, Digraanes A, Schreiner A. - Бактериологические находки в транстрахеальных аспиратах от пациентов с хроническим бронхитом и бронхоэктазами. *Scand J Respir Dis* 1975; 56: 201-207.
37. Бьёркандер Й., Бейк Б., Ханссон Л. А. - Нарушение функции легких у пациентов с дефицитом IgA и низким уровнем IgG2 или IgG3. *N Engl J Med* 1985; 313: 720-724.
38. Karlsson G, Hansson HA, Petruson B, Björkander J. - Слизистая оболочка носа при иммунодефиците. *Acta Otolaryngol* 1985; 100: 456-469.
39. Andersson B, Larsson S, Riise G. - Ингибирование *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae in vitro* терапевтическими соединениями. Лос-Анджелес, США. *Am Rev Respir Dis* 1991: A289.
40. Niederman MS, Rafferty TD, Sasaki TC, Merrill WW, Matthay RA, Reynolds HY. - Сравнение бактериальной адгезии к реснитчатой и сквамозной эпителиальной клеткам из дыхательных путей человека. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: 85-90.
41. Cotgreave IA, Eklund A, Larsson K, Moldeus PW. - Отсутствие проникновения перорально введенного N-ацетилцистеина в бронхоальвеолярную лаважную жидкость. *Eur J Respir Dis* 1987; 70: 73-77.
42. Bridgeman MME, Marsden M, MacNee W, Flenley DC, Ryle AP. - Концентрация цистеина и глутатиона в плазме и бронхоальвеолярной лаважной жидкости после лечения N-ацетилцистеином. *Thorax* 1991; 46: 39-42.