

Норми та фактори ризику зниження кількості лактобактерій та біфідобактерій у бронхоальвеолярному лаважі у пацієнтів молодого віку з рекурентним бронхітом

О.Б. Тиш

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

Широко відома надзвичайно важлива роль нормальної мікрофлори дихальних шляхів у підтриманні гомеостазу організму. Верхні відділи дихальних шляхів несуть високе мікробне навантаження, оскільки їхня слизова оболонка першою протистоїть дії різноманітних факторів навколишнього середовища.

Мета дослідження: вивчення показників норми лактобактерій та біфідобактерій у бронхоальвеолярному лаважі у людей молодого віку без захворювань дихальних шляхів, виявлення факторів ризику зниження нормофлори у пацієнтів з рекурентним бронхітом.

Матеріали та методи. За період з листопада 2015 р. до травня 2017 р. проведено обстеження 108 пацієнтів віком від 18 до 35 років. З них чоловіків – 61% (56,5±4,8), жінок – 47% (43,5±4,8) з рекурентним бронхітом (МКХ-10 J40). Крім того, обстежено 20 пацієнтів групи контролю з діагнозом «Стороннє тіло дихальних шляхів», серед яких було 35,0% (7/20) чоловіків і 65,0% (13/20) жінок.

Результати. Вперше встановлена норма лактобактерій та біфідобактерій у бронхоальвеолярному лаважі в осіб від 18 до 35 років. Позитивний результат даного дослідження дозволяє рекомендувати цей показник норми для застосування у практиці сімейного лікаря та пульмонолога. Виявлені фактори ризику зниження кількості лактобактерій та біфідобактерій при рекурентних бронхітах у пацієнтів молодого віку.

Заключення. Присутність лактобактерій та біфідобактерій у ступені 10⁵ та вище можна розцінювати як варіант норми серед населення віком від 18 до 35 років без захворювань нижніх дихальних шляхів. Надмірна маса тіла є фактором ризику зниження лакто- та біфідобактерій в 1,3 разу. Факт куріння, як і факт антибіотикотерапії, в 1,5 разу збільшують ризик зниження лакто- та біфідобактерій у пацієнтів з рекурентним бронхітом.

Ключові слова: молодий вік, лактобактерії, біфідобактерії, рекурентний бронхіт, МКХ 10 – J40, бронхоальвеолярний лаваж.

Завдяки масштабним міжнародним дослідженням, що були проведені у рамках Human Microbiome Project Meta HIT project, вдалося скласти більш повне уявлення про роль мікрофлори організму людини. Людське тіло утримує трильйони мікроорганізмів, їхня кількість перевищує число соматичних клітин у 10 разів, а маса становить 1–3% маси тіла людини (Human Microbiome Jumpstart Reference Strains Consortium et al., 2010) [1]. Мікроби колонізують не тільки всі поверхні, але і тканини органів, які вважали стерильними, наприклад, грудне молоко, плаценту (R. Martin et al., 2010; J. Gerritsen et al., 2011; K. Aagaard et al., 2014) [1, 2].

Відома надзвичайно важлива роль нормальної мікрофлори дихальних шляхів у підтриманні гомеостазу організму. Верхні відділи дихальних шляхів несуть високе мікробне навантаження, оскільки їхня слизова оболонка першою

протистоїть дії різноманітних факторів навколишнього середовища. При цьому мікрофлора захищає організм від патогенних мікроорганізмів, забезпечуючи «колонізаційний імунітет» [3].

Організм людини та його нормальна мікрофлора є єдиним взаємозв'язаним і взаємозалежним природним комплексом, стан якого значною мірою визначає стан здоров'я людини. У разі впливу різних несприятливих факторів на організм людини або його нормальну мікрофлору відбуваються зміни як внутрішнього середовища організму, так і стану його нормальної мікрофлори [4].

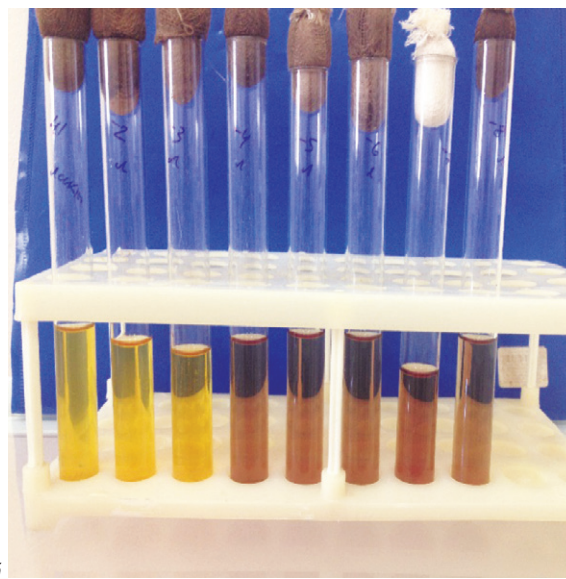
Переважаання певного виду мікрофлори залежить від генетичних, географічних, етнічних чинників. Кожна людина має унікальну, лише їй притаманну мікрофлору, що пов'язана з раціоном харчування, складом сім'ї, наявністю захворювань, регіоном проживання [5–7].

Безперечно, найважливіший корисний ефект нормальної мікрофлори – її захисна функція, що реалізується шляхом колонізації приєпітеліальної зони, прямого антагоністичного впливу на клітини чужорідної мікрофлори, вияву антиадгезивного ефекту та активної боротьби за лімітовані джерела харчування, а побічно – через здатність стимулювати імунну систему макроорганізму [8].

Склад мікробної флори індивідуальний, змінюється з часом, залежить від генотипу людини і від зовнішніх факторів. Навіть у однойцевих близнюків співпадають лише 50% видів бактерій мікробіоти кишечника (L.W. Parfrey, R. Knight, 2012) [1]. Вчені вважають, що практична можливість визначення єдиного стандарту складу мікробіоти кишечника відсутня (S. Matamoros et al., 2013) [9].

Нормальна індигенна мікрофлора бере участь у дозріванні повноцінного імунітету і є невід'ємним компонентом імунної системи організму. Вона підсилює фагоцитарну активність макрофагів, гранулоцитів і моноцитів, стимулює проліферацію плазматичних клітин, збільшує синтез IgA, цитокінів, клітинних імунних механізмів захисту та здійснює регуляцію імунної відповіді на локальному і системному рівнях, є кінцевим показником імунного захисту організму. Одна із важливих функцій мікробіоти – антианемічна, яка покращує всмоктування заліза [10]. Це спонукає дослідників переглянути давні переконання щодо складного і динамічного взаємозв'язку між мікробіоценозом та господарем у здоровому і хворому дихальному тракті. На сьогодні, згідно з даними літератури, не визначалась кількісна характеристика лактобактерій та біфідобактерій у бронхоальвеолярному лаважі в осіб молодого віку без захворювань дихальних шляхів.

Мета дослідження: вивчення показників норми лактобактерій та біфідобактерій у бронхоальвеолярному лаважі у людей молодого віку без захворювань дихальних шляхів, виявлення факторів ризику зниження нормофлори у пацієнтів з рекурентним бронхітом.



Мал. 1. Спостереження № 14 пацієнтки М. з рекурентним бронхітом, 28 років, амбулаторна карта № 40097:
а – ріст біфідобактерій у розведеннях 10^1 , 10^2 , 10^3 з бронхоальвеолярного лаважу;
б – ріст лактобактерій у розведеннях 10^1 , 10^2 , 10^3 з бронхоальвеолярного лаважу

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

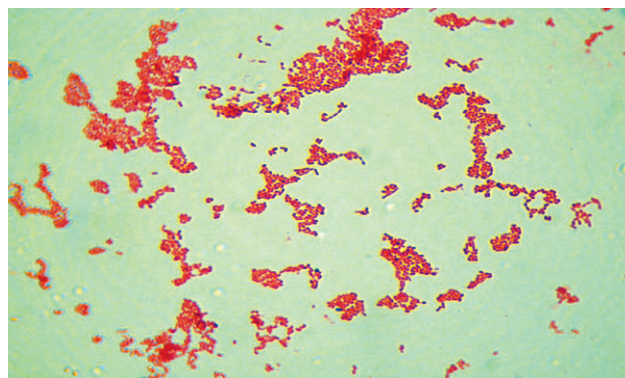
За період з листопада 2015 р. до травня 2017 р. на клінічних базах кафедри сімейної медицини та амбулаторно-поліклінічної допомоги Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика було проведено обстеження 108 жителів Київської області віком від 18 до 35 років. З них чоловіків – 61% ($56,5 \pm 4,8$), жінок – 47% ($43,5 \pm 4,8$). У всіх хворих діагностували рекурентний бронхіт, що повторювався за останні 6–8 міс 3–4 рази (J40 – бронхіт не уточнений гострий чи хронічний – за МКХ-10). Тривалість захворювання становила від 1 до 2 років.

Також було обстежено 20 пацієнтів групи контролю віком від 18 до 35 років. Серед цих пацієнтів було 35,0% (7/20) чоловіків і 65,0% (13/20) жінок без захворювань нижніх дихальних шляхів, які не приймали антибіотикотерапію з будь-яких причин протягом останніх 12 міс, але яким клінічно та ендоскопічно було встановлено діагноз «Стороннє тіло дихальних шляхів». Усі пацієнти перед проведенням дослідження підписали інформовану згоду.

Для диференційної діагностики та уточнення діагнозу усім пацієнтам було проведено рентгенологічне дослідження органів грудної клітки.

У всіх пацієнтів отримували бронхоальвеолярний лаваж під час проведення бронхоскопії в ендоскопічному відділенні Київської міської клінічної лікарні № 17 та Київської обласної клінічної лікарні. Отриманий матеріал розміщували у стерильній ємності і транспортували у бактеріологічну лабораторію ДЗ «Український центр контролю та моніторингу МОЗ України» (не більше ніж 2 год). Після доставки матеріалу до лабораторії проводили мікробіологічне дослідження. Бронхоальвеолярний лаваж (БАЛ) 0,1 мл сяли на кров'яний агар (КА), шоколадний агар (ША), середовище Ендо, жовто-сольовий агар (ЖСА), ентерококагар, Сабуро агар. Розводили БАЛ від 10^{-1} до 10^{-8} і з цих розведень 1 мл сяли на середовища для біфідобактерій і лактобактерій.

Посіви на КА, ША та середовище Ендо інкубували за температури 37 °C протягом 24 год, на ЖСА – за температури 37 °C протягом 48 год, на Сабуро агарі – за температури 24 °C протягом 5 дб, а на середовищах для біфідобактерій та лактобактерій – за температури 37 °C протягом 72 год. Після інкубації посіви переглядали, проводили підрахунок колоній



Мал. 2. Спостереження № 17 пацієнта А. з рекурентним бронхітом, 26 років, амбулаторна карта № 38701 (мазок за Грамом біфідобактерій з бронхоальвеолярного лаважу у 1000 збільшенні)

кожного виду та ідентифікацію шляхом вивчення морфологічних, культуральних, тинкторіальних та біохімічних властивостей. Приклад наведено на мал. 1, 2.

Ріст біфідобактерій на мал. 1а в однорідному жовто-солом'яному середовищі фіксували у разі появи помутніння, а лактобактерій на мал. 1б – у разі зміни коричневого кольору середовища на жовтий.

Усі поживні середовища як для первинного посіву, так і для ідентифікації мікроорганізмів були виготовлені ТОВ «Фармактив» (м. Київ).

Оброблення та аналіз даних проводили у програмних пакетах Open Office (Base, Calc, Writer, Draw, Math; зі збереженням вихідних документів у форматі *.doc, *.xls). Програмне забезпечення цих пакетів з відкритим вихідним кодом і його використання регламентується ліцензією GPL (General Public License) та IBM SPSS trial.

Частотні характеристики показників подані у вигляді $R \pm m$, де m – похибка репрезентативності. Порівняння категоріальних характеристик проводили з використанням таблиць спряженості. За допомогою критерію Пирсона (χ^2), або критерію (z) оцінювали достовірність відмінностей між

Наявність лакто- та біфідобактерій у бронхах (при розведенні від 10¹ до 10⁸) у групах, Р±т, %

Ступінь розведення	Лактобактерії		Біфідобактерії	
	Контрольна група	Досліджувана група	Контрольна група	Досліджувана група
8	65,0±10,9	5,6±2,2	40,0±11,2	-
7	20,0±9,2	9,3±2,8	25,0±9,9	3,7±1,8
6	10,0±6,9	10,2±2,9	25,0±9,9	4,6±2,06
5	5,0±5,0	12,0±3,1	10,0±6,9	11,1±3,0
4	-	13,0±3,2	-	19,4±3,8
3	-	13,9±3,3	-	15,7±3,5
2	-	13,9±3,3	-	13,9±3,3
1	-	7,4±2,5	-	10,2±2,9
Відсутній	-	14,8±3,4	-	21,3±3,9

Таблиця 2

Фактори ризику зниження лакто- та біфідобактерій у бронхоальвеолярному лаважі

Фактор ризику	χ ²	φ	RR	95% CI	p
Куріння, n=128	14,82	-0,34	1,5	1,2-1,8	0,001
Підвищений індекс маси тіла, n=128	6,10	-0,22	1,3	1,0-1,6	0,01
Вживання антибіотиків, n=108	15,08	-0,34	1,5	1,2-1,9	0,001

Примітка: р – рівень статистичної значущості.

відсотковими частками обох вибірок. Визначали відносний ризик (RR) та 95% довірчий інтервал (95% CI), що дозволяв визначити ймовірність виникнення патологічних порушень у пацієнтів порівняно з іншою групою, яка відрізнялась за якісними параметрами. Для знаходження сили зв'язку між показниками вираховували критерій чотирьохпольової кореляції для дихотомічних показників (φ).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відповідно до отриманих позитивних даних щодо якості наявності лакто- та біфідобактерій у бронхоальвеолярному лаважі контрольної та досліджуваної груп було науково вивчено частоту наявності лакто- та біфідобактерій у різних ступенях розведення – від 10¹ до 10⁸ (табл. 1).

Було визначено, що лакто- і біфідобактерії були знайдені у 100% випадків контрольної групи у розведеннях 10⁵, 10⁶, 10⁷, 10⁸. У розведенні 10⁸ ріст лактобактерій виявлено у 65% (13/20) обстежених контрольної групи, біфідобактерій – у 40% (8/20). У розведенні 10⁷ рівень лактобактерій визначено у 20% (4/20), біфідобактерій – у 25% (5/20) здорових осіб. У розведенні 10⁶ лактобактерій було 10% (2/20), а біфідобактерій – 25% (5/20), у розведенні 10⁵ лактобактерій виявлено у 5% (1/20) пацієнтів з контрольної групи, біфідобактерій – у 10% (2/20) здорових осіб. Усі спостереження мали незначну кількісну перевагу у бік лактобактерій.

Зовсім інші дані у досліджуваній групі, оскільки у розведенні 10⁸ ріст лактобактерій виявили у 5,6% (6/108) пацієнтів, а ріст біфідобактерій взагалі був відсутній. Натомість у розведенні 10⁷ ріст лактобактерій був виявлений у 9,3% (10/108), а біфідобактерій – у 3,7% (4/108) осіб. У розведенні 10⁶ ріст лактобактерій встановлено у 10,2% (11/108), а біфідобактерій – у 4,6% (5/108) пацієнтів досліджуваної групи. У 10⁵ розведенні лактобактерій було виявлено у 12% (13/108), а біфідобактерій – у 11,1% (12/108) осіб. При розведенні 10⁴ ріст лактобактерій встановлено у 13% (14/108), а біфідобактерій у 19,4% (21/108) випадків, а в розведенні 10³ лактобактерій

виявлено у 13,9% (15/108), біфідобактерій – у 15,7% (17/108) пацієнтів. У розведенні 10² лактобактерій знайдено у 13,9% (15/108), а біфідобактерій – у 13,9% (15/108) хворих, а у 10¹ розведенні лактобактерій встановлено у 7,4% (8/108), а біфідобактерій – у 10,2% (11/108) досліджуваних.

Під час обстеження пацієнтів з рекурентним бронхітом (РБ) відсутній ріст лактобактерій виявили у 14,8% (16/108), а біфідобактерій – у 21,3% (23/108) пацієнтів. Кількість пацієнтів з виявленням лактобактерій у досліджуваній групі у межах здорової норми становила лише 37,1% (40/108), а біфідобактерій – 19,4% (21/108).

Для виявлення факторів ризику до зниження лакто- та біфідобактерій у бронхоальвеолярній рідині було розглянуто 43 клінічних показники у пацієнтів з РБ. Статистично значущі фактори ризику наведені у табл. 2.

Як видно з табл. 2, статистично значущий (2-сторонній) зв'язок (χ²₁=14,82, φ=-0,34; p=0,001) існує між фактом куріння та ризиком зниження лакто- та біфідобактерій за наявності рекурентних бронхітів: ризик зниження збільшувався в 1,5 разу (95% CI: 1,2–1,8). Статистично значущий (2-сторонній) зв'язок (χ²₁=6,10, φ=-0,22; p=0,01) існував між фактом підвищеного ІМТ та ризиком зниження лакто- та біфідобактерій при РБ. Ризик зниження збільшувався в 1,3 разу (95% CI: 1,0–1,6). Найбільша сила (2-стороннього) статистично значущого зв'язку (χ²₁=15,08, φ=-0,34; p=0,001) існувала між фактом вживання антибіотиків та ризиком зниження лакто- та біфідобактерій при РБ, а сам ризик зниження лакто- та біфідобактерій збільшувався в 1,5 разу (95% CI: 1,2–1,9).

ВИСНОВКИ

1. У бронхоальвеолярному лаважі присутність представників нормофлори (лактобактерій та біфідобактерій) у ступені 10⁵ та вище можна розцінювати як варіант норми серед населення віком від 18 до 35 років без захворювань нижніх дихальних шляхів. Позитивний результат даного дослідження дозволяє рекомендувати цей показник норми для застосування в практиці сімейного лікаря і пульмонолога.

2. Лактобактерії у досліджуваній групі в межах здорової норми виявлено у 37,1% (40/108), біфідобактерії – у 19,4% (21/108) пацієнтів. Ці показники потребують корекції повторної профілактики пацієнтів з рекуррентним бронхітом.

3. Факт куріння виявився статистично значущим ($\chi^2_1=14,82$, $\phi=-0,34$; $p=0,001$) і впливає на ризик зниження лакто- та біфідобактерій у пацієнтів з рекуррентним бронхітом

Нормы и факторы риска снижения количества лактобактерий и бифидобактерий в бронхоальвеолярном лаваже у пациентов молодого возраста с рекуррентным бронхитом
О.Б. Тыш

Широко известна важная роль нормальной микрофлоры дыхательных путей в поддержании гомеостаза организма. Верхние отделы дыхательных путей несут высокие микробные нагрузки, поскольку их слизистая оболочка первой противостоит воздействию различных факторов окружающей среды.

Цель исследования: изучение показателей нормы лактобактерий и бифидобактерий в бронхоальвеолярном лаваже у людей молодого возраста без заболеваний дыхательных путей, выявление факторов риска снижения нормофлоры у пациентов с рекуррентным бронхитом.

Материалы и методы. За период с ноября 2015 по май 2017 г. было проведено обследование 108 пациентов в возрасте от 18 до 35 лет. Из них мужчин – 61% (56,5±4,8), женщин – 47% (43,5±4,8) с рекуррентным бронхитом (МКБ-10 J40). Кроме того, обследованы 20 пациентов группы контроля с диагнозом «Иностранное тело дыхательных путей», среди которых было 35,0% (7/20) мужчин и 65,0% (13/20) женщин.

Результаты. Впервые установлена норма лактобактерий и бифидобактерий в бронхоальвеолярном лаваже у лиц от 18 до 35 лет. Положительный результат данного исследования позволяет рекомендовать этот показатель нормы для применения в практике семейного врача и пульмонолога. Выявлены факторы риска снижения количества лактобактерий и бифидобактерий при рекуррентных бронхитах у пациентов молодого возраста.

Заключение. Присутствие лактобактерий и бифидобактерий в степени 10^5 и выше можно расценивать как вариант нормы среди населения в возрасте от 18 до 35 лет без заболеваний нижних дыхательных путей. Избыточный вес является фактором риска снижения лакто- и бифидобактерий в 1,3 раза. Факт курения, как и факт антибиотикотерапии, в 1,5 раза увеличивают риск снижения лакто- и бифидобактерий у пациентов с рекуррентным бронхитом.

Ключевые слова: молодой возраст, лактобактерии, бифидобактерии, рекуррентный бронхит, МКБ 10 – J40, бронхоальвеолярный лаваж.

– ризик збільшений в 1,5 разу для населення віком від 18 до 35 років (95% CI: 1,2–1,8).

4. Надмірна маса тіла є фактором ризику зниження лакто- та біфідобактерій (RR=1,3 для пацієнтів з рекуррентним бронхітом, а для популяції – у 95% CI: 1,0–1,6).

5. Антибіотикотерапія виявилася найбільш впливовим фактором ризику зниження лакто- та біфідобактерій, при рекуррентних бронхітах ризик збільшився в 1,5 разу (95% CI: 1,2–1,9).

Standards and risk factors for reducing the amount of lactobacillus and bifidobacterium in bronchoalveolar lavage in young patients with recurrent bronchitis
O.B. Tysh

The role of normal microflora of the respiratory tract in maintaining the homeostasis of an organism is extremely important. The upper respiratory tract have a high microbial burden, since their mucus membrane is the first to resist the actions of various environmental factors.

The objective: to study parameters of lactobacillus and bifidobacterium in bronchoalveolar lavage, in young people without respiratory diseases, and to identify the risk factors for decreasing the normal flora in patients with recurrent bronchitis.

Materials and methods. For the period from November, 2015 to May 2017, a survey of 108 patients aged 18 to 35 years old was conducted. Of these, men – 61% (56,5±4,8), women – 47% (43,5±4,8) with recurrent bronchitis (ICD-10 J40). In addition, 20 patients in the control group with a diagnosis were examined «Third-party respiratory tract» were examined, among which 35,0% (7/20) were males and 65,0% (13/20) women.

Results. The norm for lactobacillus and bifidobacterium in bronchoalveolar lavage in individuals from 18 to 35 years old was first established. The positive result of this study allows us to recommend this rate norm for use in the practice of family physician and pulmonologist. The revealed risk factors for reducing the number of lactobacillus and bifidobacterium in recurrent bronchitis in young patients.

Conclusions. The presence of lactobacillus and bifidobacterium in degree 10^5 and above can be considered as a variant of the norm among the population aged 18 to 35 years, without diseases of the lower respiratory tract. Overweight is a risk factor for reducing lactobacillus and bifidobacterium by 1.3 times. The fact of smoking, like the fact of antibiotic therapy, increases the risk of lactobacillus reduction in patients with recurrent bronchitis by 1,5 times.

Key words: young age, lactobacillus, bifidobacterium, recurrent bronchitis, ICD 10 – J40, bronchoalveolar lavage.

Сведения об авторе

Тыш Ориана Богдановна – Кафедра семейной медицины и амбулаторно-поликлинической помощи Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 01032, г. Киев, ул. Саксаганского, 100; тел.: (044) 288-10-34, (067) 422-54-77. E-mail: tysh.oriyana@gmail.com

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. A catalog of reference genomes from the human microbiome //Science. – 2010; 328(5981). Режим доступу до журн.: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2940224/>
2. Intestinal microbiota in pathophysiology and management of irritable bowel syndrome // Lee K.N., Lee O.Y./ World J Gastroenterol. 2014 20(27) DOI: 10.3748/wjg.v20.i27.8886.
3. Фещенко Ю.І. Особливості мікробіоценозу верхніх дихальних шляхів у хворих на бронхіальну астму у фазі загострення / Ю.І. Фещенко, І.П. Турчина, Л.М.Курик // Український пульмонологічний журнал, – 2014. – № 2. – С. 40–44.
4. Звягинцева Т.Д. Дисбиоз тонкого и толстого кишечника: возможности патогенетической коррекции/Т.Д. Звягинцева, А.И. Чернобай // Укр. мед. вісн. – 2013 – № 5 (80). – С. 60–64.
5. Woodhead M. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections [Text] / M. Woodhead [et al.] // Clinical microbiology and infection.-2011. – Vol. 17, Suppl.6 –P.E1-E59. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03602.x
6. Харченко Н.В Роль порушень кишкового мікробіоценозу в розвитку гіперхолестеринемії // Журнал сучасна гастроентерологія. – 2015. – № 5 (85). – С. 76–82.
7. Турчина І.П. Особливості клінічного перебігу бронхіальної астми у хворих з колонізацією верхніх дихальних шляхів умовно-патогенною мікрофлорою // Науково-практичний журнал «Астма і алергія», 2014. – № 3. – С. 30–21.
8. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health // Matamoros S., Gras-Leguen C., Le Vacon F./ Trends Microbiol. 2013 Apr 21(4):167–73. DOI: 10.1016/j.tim.2012.12.001

Статья поступила в редакцию 04.06.2018