

# ДЕЙСТВИЕ КОНДЕНСАТА ТАБАЧНОГО ДЫМА НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

УДК 613.84:616.24:612.014.48

Поступила 10.02.2011 г.



А.С. Шпрыков, к.м.н., доцент кафедры туберкулеза

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород

**Цель исследования** — изучить действие конденсата табачного дыма (КТД) на биологические свойства возбудителей неспецифических инфекций дыхательных путей: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*.

**Материалы и методы.** С помощью разработанного метода исследования проведены посевы субкультур на плотные питательные среды с пятью последовательными разведениями КТД: от 10 мг/мл (1-е) до 0,001 мг/мл (5-е).

**Результаты.** Отмечен стимулирующий эффект 4-го разведения (0,01 мг/мл) КТД в виде усиления биохимических реакций, повышенного слизиобразования, увеличения размера и числа колоний на 25—29% (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*),  $p < 0,05$  и на 12% (*K. pneumoniae*). Таким образом, КТД выступает, в некоторых концентрациях, стимулятором роста микробных клеток.

**Ключевые слова:** конденсат табачного дыма, биологические свойства, возбудители неспецифической легочной патологии.

## English

## The effect of tobacco smoke condensate on biological properties of agents of nonspecific pulmonary pathology

A.S. Shprykov, PhD, Associate Professor, the Department of Tuberculosis

Nizhny Novgorod State Medical Academy, N. Novgorod

**The aim of the work** is to study the effect of tobacco smoke condensate (TSC) on biological characteristics of the agents of nonspecific pulmonary pathology: *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*.

**Materials and Methods.** By means of the technique developed there have been carried out subculture inoculation on solid media with five successive TSC dilutions: from 10 mg/ml (the 1st dilution) to 0.001 mg/ml (the 5th one).

**Results.** There has been observed a stimulating effect of the 4th dilution (0.01 mg/ml) in the form of biochemical reaction increase, increased mucus production, the increase of the size and a number of colonies by 25—29% (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*),  $p < 0.05$  and by 12% (*K. pneumoniae*). Thus, in some concentrations, TSC stimulates the growth of microbial cells.

**Key words:** tobacco smoke condensate, biological properties, agents of nonspecific pulmonary pathology.

В современных руководствах по заболеваниям легких [1, 2] указывается, что внебольничную пневмонию у курящих больных чаще всего вызывают *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae* и ряд других микроорганизмов. Имеются данные, что табачный дым нарушает очищение дыхательных путей и способствует их колонизации вышеназванными патогенами [3]. Следует отметить, что двуокись углерода, составляющая 13% основного потока табачного дыма, является необходимым компонентом для культивирования *S. pneumoniae* и *H. influenzae* в лабораторных условиях [4].

**Цель исследования** — изучить биологические свойства основных возбудителей неспецифической легочной патологии в условиях воздействия продуктов табачного дыма.

**Материалы и методы.** В эксперименте участвовали культуры *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *K. pneumoniae*, являющихся основными бактериальными этиологическими агентами внебольничных пневмоний. Были взяты штаммы возбудителей, полученные от больных с легочной патологией. Для контроля качества исследований, качества питательных сред использовали референс-штаммы: *S. pneumoniae* — ATCC 49619; *H. influenzae* — ATCC 49247; *K. pneumoniae* — ATCC35657 BD Difco™ BBL.

Конденсат табачного дыма (КТД), являющийся общепринятым международным показателем кумулятивного действия курения [5], получали на роторном курительнике-автомате Borgwaldt RM 20/CS (Германия). Изучение биологических свойств микроорганизмов проводили

Для контактов: Шпрыков Александр Сергеевич, тел. раб. 8(831)432-85-92, тел. моб. +7 905-195-81-87; e-mail: olgachpr@aport.ru.

на основе модифицированного патентованного метода исследований [6]. Его принцип заключается в посевах экспериментальных штаммов возбудителей легочной патологии на плотные питательные среды с пятью последовательными разведениями конденсата: от 10 мг/мл (1-е разведение) до 0,001 мг/мл (5-е разведение). Перед посевом 18—24-часовые культуры разводили в стерильном физиологическом растворе и доводили на денситометре до значения оптической плотности 0,5 ед. по Мак-Фарланду. Десятикратные разведения в объеме 0,1 мл наносили на поверхность плотных питательных сред с КТД. Всего с неспецифическими возбудителями проведено более 1400 исследований по изучению ростовых, морфологических, биохимических и других фенотипических свойств. Рост микробов оценивали в колониеобразующих единицах (КОЕ).

**Результаты и обсуждение.** Проведено по 5—6 серий экспериментов с каждым из выбранных возбудителей внебольничных пневмоний.

Рост *S. pneumoniae* оценивали на кровяном агаре с КТД (5 разведений) и без КТД (контроль). В 1, 2 и 3-м (10; 1 и 0,1 мг/мл) разведениях проявилось угнетающее воздействие КТД на культуру: наблюдался рост сухих мелких колоний. В 5-м разведении КТД (0,001 мг/мл), как и в контроле, наблюдался рост изолированных колоний обычного для *S. pneumoniae* вида. **Наибольший** рост соответствовал 4,1 ед. мутности по Мак-Фарланду и возникал на 4-м разведении КТД (0,01 мг/мл), увеличение по сравнению с контролем составило 28,1% ( $p < 0,05$ ). Колонии на 4-м разведении КТД были более крупные и слизистые, микроскопия материала этих колоний наряду с обычными грамположительными диплококками выявила значительное количество крупных слабоокрашенных по периферии диплококков.

При изучении изменений свойств *H. influenzae* под воздействием КТД в 5 сериях близкий к контролю результат дали 3-е и 5-е (максимальное) разведения, где количество и вид колоний на шоколадном агаре, а также морфология и микроскопия практически совпадали с результатами на контрольной чашке без КТД.

В 4-м разведении (0,01 мг/мл) рост по количеству и размерам колоний был самым массивным и составил в среднем  $1293,00 \pm 85,17$  КОЕ, увеличение по сравнению с контролем — 25%,  $p < 0,05$ . Рост отмечается в виде более крупных и влажных колоний. Микроскопия окрашенных по Граму мазков для 3-го (0,1 мг/мл) и 4-го (0,01 мг/мл) разведений была идентична. Кроме грамтрицательных мелких палочек констатировали присутствие также кокковидных форм и значительного количества нитевидных форм (в 3 опытах из 5), что свидетельствует о колебании фенотипа. Четко прослеживается угнетающее действие на *H. influenzae* высоких концентраций 1-го (10 мг/мл) и 2-го (1 мг/мл) разведений КТД.

Более выраженную биохимическую активность культур с 3-го и 4-го разведений (0,1 и 0,01 мг/мл) КТД выявляли в отношении тестов окисления глюкозы на среде Хью—Лейфсона, индолообразования, утилизации лактозы, мочевины, т.е. отмечали стимулирующее воздействие КТД. Утилизация сиалозы была вариабельной

как у опытных культур с 4-го и 5-го разведений, так и у контрольных. Тесты на  $\beta$ -галактозидазу, декарбоксилирование орнитина были отрицательными у всех культур во всех сериях экспериментов.

Эффект усиления биохимической активности в ряде тестов имеет, возможно, мутагенный характер, не затрагивающий генотип микроорганизма. Однако не вызывает сомнения, что воздействие достоверно присутствует, о чем свидетельствует четкое отсутствие изменений в контроле.

Влияние КТД на свойства *K. pneumoniae* изучали в 6 сериях экспериментов. Как и в предыдущих случаях, отмечается угнетающее воздействие максимальных концентраций КТД на рост *K. pneumoniae*. На 5-м разведении рост культур соответствовал контролю, а в 4-м был более обильным: на 11,8% больше, чем в контроле ( $p > 0,05$ ). На 3, 4 и 5-м разведениях рост колоний являлся в виде крупных слизистых «капель». В 4-м и 5-м разведениях (0,01 и 0,001 мг/мл) отмечалась более выраженная реакция Фогес—Проскауера, что, возможно, служит проявлением стимулирующего воздействия конденсата в данном биохимическом тесте.

Полученные результаты согласуются с данными других авторов. Наше внимание привлекла публикация S. Ewig с соавт. [7] о том, что среди курящих больных удельный вес внебольничных пневмоний с установленной этиологией возбудителя (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*) в 1,5 раза и более выше, чем у некурящих. Таким образом, авторы косвенно признают стимулирующее воздействие курения на рост микроорганизмов.

**Заключение.** Продукты табачного дыма не безразличны для возбудителей неспецифических бактериальных респираторных инфекций. В большинстве случаев 1-е и 2-е разведения конденсата табачного дыма оказывают выраженное в разной степени супрессивное действие на рост микрофлоры, 5-е и частично 3-е — дают результат, близкий к контролю, а 4-е — вызывает стимулирующий эффект (увеличение числа колоний на 20—30%). Это разведение примерно соответствует количеству продуктов курения, задерживающихся в организме злостного курильщика с индексом курения  $\geq 25$  пачек/лет [6]. Эта же концентрация достоверно изменяет фенотип изученных микроорганизмов: увеличивается размер колоний, число колоний, появляется повышенное слизееобразование, меняются биохимические реакции (*H. influenzae*, *K. pneumoniae*). **Нельзя** исключить, что конденсат табачного дыма содержит химические соединения, являющиеся в некоторых концентрациях стимуляторами роста микробных клеток.

## Литература

1. Диагностика и лечение пневмоний: Основные принципы. Под ред. С.И. Сторожакова, А.А. Карабиненко. М: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2008; 168 с.
2. Респираторная медицина. Руководство. Под ред. акад. РАМН А.Г. Чучалина. Т. I. М: ГЭОТАР-Медиа; 2007; 800 с.
3. Ozlu T., Cay M., Akbulut A., Yekeler H. et al. The facilitat-

- ing effect of cigarette smoke on the colonization of instilled bacteria into the tracheal lumen in rats and the improving influence of supplementary vitamin E on the process. *Respirology* 1999; 4(3): 245—248.
4. Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-диагностических учреждений. Приказ №535 МЗ СССР от 22.04.1985 г.
  5. *Dube M.F., Green C.R.* Methods of collection of smoke for analytical purposes. *Recent Adv Tob Sci* 1982; 8: 42—102.
  6. *Шпрыков А.С., Лазовская А.Л., Жаднов В.З.* Способ подготовки воздействия табачного дыма на туберкулезный возбудитель. Патент №2083001 РФ. 1997.
  7. *Ewig S., Torres A., Angeles Marcos M. et al.* Factors associated with unknown etiology in patient with community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2002; 20: 1254—1262.