



Pengaruh Nebulisasi *N-acetylcysteine* Terhadap Pembentukan Biofilm Bakteri Pada Pipa Endotrakeal Pada Pasien yang Terpasang Ventilator di ICU

Shila Suryani^{1*}, Untung Widodo², Abu Tholib Aman³

1. Departemen Anestesiologi dan Terapi Intensif, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia
2. Departemen Anestesiologi dan Terapi Intensif, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
3. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*penulis korespondensi

DOI: 10.55497/majanestcricar.v42i1.322

ABSTRAK

Latar Belakang: Kemampuan bakteri membentuk biofilm merupakan salah satu penyebab resistensi antibiotik dan menurunkan angka keberhasilan terapi. *N-acetylcysteine* merupakan obat mukolitik yang juga memiliki efek menghambat produksi dari matriks polisakarida ekstraseluler, sehingga dapat mencegah pembentukan biofilm. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh nebulisasi *N-acetylcysteine* terhadap pertumbuhan biofilm pada pipa endotrakeal pada pasien yang terpasang ventilator.

Metode: Rancangan penelitian ini uji klinis acak terkontrol, ketersamaran ganda. Kriteria inklusi subjek penelitian adalah usia 18-70 tahun, menggunakan ventilator dengan pipa endotrakeal H-O, dan setuju menjadi subyek penelitian, kriteria eksklusi adalah pasien yang mempunyai penyakit paru sebelum intubasi dan pasien sulit intubasi, kriteria *drop out* adalah pipa endotrakeal ekspulsi atau autoextubasi, meninggal < 48 jam, dan ekstubasi > 96 jam. Pasien dibagi menjadi dua kelompok. kelompok A mendapatkan nebulisasi *N-acetylcysteine* dan kelompok B yang mendapatkan nebulisasi akuades setiap delapan jam hingga ekstubasi. Sampel diambil berupa apusan ujung ET pasien yang terpasang ventilator 48-96 jam.

Hasil: Total subjek berjumlah 122 pasien, 12 *drop out*. Sampel yang didapatkan berjumlah 110, 55 sampel kelompok A dan 55 kelompok B. Terdapat perbedaan karakteristik sampel pada faktor komorbid sepsis dan jenis operasi. Tidak didapatkan perbedaan bermakna secara statistik pada bakteri pembentuk biofilm ringan dan sedang, namun dijumpai perbedaan bermakna pada bakteri pembentuk biofilm kuat.

Simpulan: pemberian nebulisasi *N-acetylcysteine* pada pasien yang menggunakan ventilator dengan pipa ET 48-96 jam tidak mencegah terbentuknya biofilm namun dapat menghambat pembentukan biofilm kuat.

Kata Kunci: biofilm; *N-acetylcysteine*; pipa endotrakeal; ventilator



Effect N-acetylcysteine Nebulation on Bacteria Biofilms Formation on Endotracheal Tube in Patients with Ventilators in ICU

Shila Suryani^{1*}, Untung Widodo², Abu Tholib Aman³

1. Department of Anesthesiology and Intensive Therapy, Faculty of Medicine, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia
2. Departement of Anesthesiology and Intensive Therapy, Faculty of Medicine Public Health and Nursing, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
3. Departement of Microbiology, Faculty of Medicine Public Health and Nursing, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*corresponding author

DOI: 10.55497/majanestcricar.v42i1.322

ABSTRACT

Background: The formation of biofilms can lead to antibiotic resistance thereby reduce the success of therapy. N-acetylcysteine is a mucolytic drug which has an effect inhibit the production of the extracellular polysaccharide matrix, thereby preventing biofilm formation. This study aim to determined the effect of N-acetylcysteine nebulization on bacteria biofilms formation on the endotracheal tube in patients with ventilators more than 48 hours.

Methods: Design of this study was a randomized control trial with double blindness. The inclusion criteria subjects were 18-70 years old, using ventilator with endotracheal tube H-O and signed informed consent, exclusion criteria were patients with lung disease before intubation and had difficult intubation, drop out criteria were expelled or auto extubated, died < 48 hours, and had extubation > 96 hours. Patients were randomized into two groups. Group A got N-acetylcysteine and group B got aquadest every 8 hours until they extubated. Samples were taken in ET tip smears from patients who were attached to a ventilator for 48-96 hours.

Results: 122 patients obtained, 12 patients dropped out, total samples were 110, 55 samples in each group. There were differences in sample characteristics on sepsis and types of surgery. There were no statistically significant differences in weak and moderate biofilm-forming bacteria, but significant differences were found in strong biofilm-forming bacteria.

Conclusion: Administration of nebulized N-acetylcysteine to patients on ventilators with ET tubes does not prevent the formation of biofilms but can inhibit the formation of strong biofilms.

Keywords: biofilms; endotracheal tube; N-acetylcysteine; ventilators

PENDAHULUAN

Pipa endotrakeal (ET) merupakan salah satu tempat yang baik dan ideal bagi bakteri untuk melekat dan membentuk biofilm baik di dalam maupun diluar lumen. Sesaat setelah intubasi, bakteri patogen akan berkumpul di permukaan ET terutama disepertiga distal. Pasien yang terpasang ET lebih dari 24 jam, 97% sudah terbentuk biofilm.^{1,2} Biofilm adalah struktur tiga dimensi yang terbentuk dari substansi *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang disekresikan oleh bakteri yang melekat pada permukaan.^{3,4}

Terbentuknya kolonisasi bakteri merupakan salah satu faktor terjadinya infeksi dan diperkirakan 65% dari infeksi bakteri berhubungan dengan terbentuknya biofilm.⁵ Adanya biofilm merupakan salah satu faktor penyulit dalam keberhasilan memberikan terapi pada infeksi bakteri, karena dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik, sehingga dibutuhkan konsentrasi obat antibiotik 10-100 kali lipat dibandingkan pada bakteri dalam bentuk plankton. Selain itu, terbentuknya biofilm juga menyebabkan terjadinya reinfeksi yang dapat terjadi beberapa minggu atau bulan kemudian.⁶ *N-acetylcysteine* (NAC) merupakan obat mukolitik yang biasa digunakan pada terapi penyakit paru. Beberapa studi menyebutkan NAC juga memiliki efek anti bakterial dengan mekanisme kerja dapat menghambat produksi dari matriks polisakarida ekstraseluler sehingga mencegah terbentuknya biofilm.⁷

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian ini adalah uji klinis acak terkontrol eksperimental paralel dua kelompok dengan ketersamaran ganda.⁸ Subjek penelitian dirandomisasi dengan teknik random sederhana menjadi dua kelompok, kelompok A mendapatkan nebulisasi NAC 100 mg/ml, 3 ml dan kelompok B mendapatkan nebulisasi akuades 3 ml. Nebulisasi diberikan setiap 8 jam mulai dari subyek terintubasi hingga ekstubasi pada rentang waktu 48-96 jam. Kriteria inklusi meliputi pasien berumur 18-70 tahun yang menggunakan ventilasi mekanik dengan pipa trakeal hari ke 0 (surgikal maupun medikal) dan setuju menjadi subjek penelitian. Kriteria

eksklusi yaitu pasien yang menderita infeksi paru sebelum terpasang ET dan ventilasi mekanik, dan pasien sulit intubasi (usaha intubasi > 3x/*false route*). Pasien yang mengalami ekspulsi/*autoekstubasi*, meninggal kurang dari 48 jam, dan ekstubasi lebih dari 96 jam akan di *drop out*. Sampel yang diambil berupa apusan ujung ET intra dan ekstra lumen kemudian dilakukan pencampuran pada tabung reaksi dan kemudian ditanam di media agar. Bakteri yang tumbuh dilakukan identifikasi bakteri dan pemeriksaan biofilm secara tidak langsung dengan teknik *microplate titer assay*.⁹ Penilaian biofilm dilakukan dengan mengukur densitas optikal biofilm. Analisa data untuk karakteristik sampel menggunakan tes Fisher karena syarat Chi-Square tidak terpenuhi dan perbandingan biofilm kedua kelompok menggunakan Mann-Whitney karena distribusi data tidak normal.

HASIL PENELITIAN

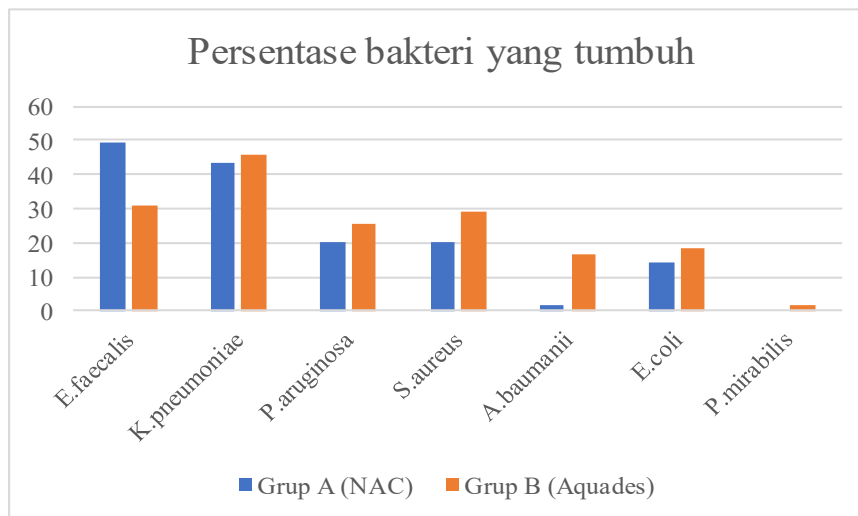
Penelitian ini dilakukan setelah persetujuan etik dari komite etik Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan UGM diterbitkan dengan No KE/FK/1231/EC/2022. Subyek yang mengikuti penelitian berjumlah 122 pasien, 12 subyek *drop out* karena ekspulsi, meninggal kurang dari 48 jam dan menggunakan ventilator lebih dari 96 jam, sehingga didapatkan 110 sampel yang dilanjutkan ke pemeriksaan biofilm dan identifikasi bakteri. Data karakteristik sampel dapat dilihat pada Tabel 1. Pada tabel tersebut dapat dilihat tidak terdapat perbedaan bermakna pada karakteristik usia, indeks massa tubuh (IMT) dan durasi intubasi, namun terdapat perbedaan pada komorbid sepsis ($p < 0,05$). Isolat bakteri yang tumbuh pada media biakan dilakukan pemeriksaan biofilm dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 3 dan Gambar 1. Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa semua isolat bakteri yang tumbuh merupakan bakteri pembentuk biofilm. Perbandingan derajat pembentukan biofilm kedua kelompok dari hasil uji statistik menggunakan Chi-Square. Tidak dijumpai perbedaan bermakna pada bakteri pembentuk biofilm lemah dan sedang, namun dijumpai perbedaan bermakna pada bakteri pembentuk biofilm kuat. Keterangan antibiotik yang digunakan subyek dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 1. Data karakteristik subjek penelitian

Variabel	Grup A n (%)	Grup B n (%)	p
Usia	48,58 ± 12,36	50,45±14,43	0,421
IMT			
<i>Underweight</i>		4 (7,3)	
<i>Normoweight</i>	51 (92,7)	32 (58,2)	0,11
<i>Overweight</i>	4 (7,3)	16 (29,1)	
Obesitas1		1 (1,8)	
Obesitas2		2 (3,6)	
Penyakit penyerta (komorbid)			
Hipertensi	20 (36,4)	13 (23,6)	0,145
Diabetes Melitus	0(0)	4 (7,3)	0,059
Penyakit ginjal kronik	0(0)	2(3,6)	0,248
Sepsis	0(0)	6(10,9)	0,027
Penyakit jantung	0(0)	2(3,6)	0,248
Riwayat stroke	0(0)	4(7,3)	0,059
Gangguan hepar	2(3,6)	0(0)	0,059
Indikasi Ventilator			
Operasi			
Kraniotomi tumor otak	43 (78,2)	24(43,6)	0,001
Kraniotomi <i>Trauma Brain Injury</i>	5 (9,1)	19(34,5)	0,000
Laparotomi	3 (5,5)	10 (18,2)	0,014
Non operasi (edema paru, asma status epileptikus)	4 (7,3)	2 (3,6%)	0,248
Penggunaan steroid > 10 hari	2(3,6)		0,495
Durasi intubasi	57 ±13,9	63,2 ± 15,9	0,132

Tabel 2. Perbandingan pembentukan biofilm bakteri kedua kelompok

Kemampuan membentuk biofilm	Grup A n (%)	Grup B n (%)	P	RR	IK (95%)
Lemah	4 (7,2)	2(3,6)	0,728	2,03	0,027-1,428
Sedang	23 (41,8)	14 (25,5)	0,073	1,65	0,121- 1,184
Kuat	28 (50,9)	39 (70,9)	0,03	0,72	0,075- 0,245



Gambar 1. Diagram perbandingan persentase bakteri yang tumbuh kedua kelompok

Tabel 3. Isolat bakteri yang tumbuh pada apusan pipa trakeal pada kedua kelompok

Jenis Bakteri	Grup A (%)	Grup B (%)	P
<i>Enterococcus. faecalis</i>	27 (49,1)	17 (30,9)	0,052
<i>Klebsiella. Pneumoniae</i>	24 (43,6)	26 (47,3)	0,848
<i>Pseudomonas. Aeruginosa</i>	12 (21,8)	15 (27,3)	0.495
<i>Staphylococcus. Aureus</i>	11 (20)	16 (29,1)	0,268
<i>Acinetobacter. Baumannii</i>	1 (1,8)	9 (16,4)	0,008
<i>Eschericia. Coli</i>	8 (14,5)	10 (18,2)	0,606
<i>Proteus. Mirabillis</i>	0 (0)	1 (1,8)	0,315

Tabel 4. Penggunaan antibiotik kedua kelompok

Antibiotik	Grup A (%)	Grup B (%)
Ceftriakson	96	89
Ceftazidim	4	3
Ciprofloksasin		2
Metronidazol		3
Meropenem		3

PEMBAHASAN

Pada kondisi lingkungan kurang menguntungkan atau mengancam kehidupan, bakteri akan mencari tempat ideal untuk melekat, membuat koloni dan membentuk biofilm baik pada permukaan hidrofilik maupun hidrofobik. ET merupakan alat berbahan *polyvynyl* yang lebih mudah melekat dibanding metal.¹⁰ Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa, semua isolat bakteri dominan yang tumbuh pada media mampu membentuk biofilm baik pada kelompok yang diberikan nebulisasi NAC maupun yang tidak. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian nebulisasi NAC tidak menghambat total dari produk EPS. Bakteri masih mampu memproduksi dan mensekresikan EPS sehingga biofilm terbentuk. Tidak dijumpai perbedaan pembentukan biofilm lemah dan sedang antara kedua kelompok, namun dijumpai perbedaan pada pembentukan biofilm kuat. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh EPS yang dihasilkan bakteri pada kelompok A lebih sedikit dibandingkan kelompok B. Perhitungan nilai RR pun menunjukkan bahwa semua subyek penelitian, baik yang diberikan NAC maupun yang tidak kemungkinan risiko terbentuknya biofilm lemah dan sedang sama, namun kemungkinan terbentuknya biofilm kuat pada pasien yang terpapar NAC lebih kecil dibandingkan plasebo.

Penelitian sebelumnya terkait pengaruh NAC terhadap biofilm telah banyak dilakukan secara invitro, seperti Zhao dan Liu pada tahun 2010 melakukan penelitian tentang efek NAC terhadap pertumbuhan biofilm *P. aeruginosa* sebagai agen tunggal dan kombinasi dengan ciprofloxacin. Dalam penelitian tersebut didapatkan bahwa NAC secara agen tunggal mampu menghambat pertumbuhan biofilm hingga 44,9% dan didapatkan hasil optimal pada pemberian NAC kombinasi dengan ciprofloxacin.⁷ Olofsson *et al.* juga melakukan penelitian efek NAC pada pertumbuhan biofilm pada permukaan yang keras mendapatkan hasil bahwa NAC dapat menurunkan produksi EPS, pembentuk biofilm dari bakteri *P.aeruginosa*, *S aureus* dan *A.baumanii*.¹¹ Costa juga melakukan penelitian serupa pada permukaan alat dan mendapatkan hasil yang sama bahwa NAC dapat menghambat perlekatan dan pembentukan biofilm.¹²

Beberapa penelitian *in-vivo* juga mendapatkan hasil yang sama seperti penelitian oleh Qu pada tahun 2016 yang mendapatkan hasil ketebalan biofilm bakteri dari apusan ET lebih tipis pada pasien yang diberikan inhalasi NAC dibandingkan dengan placebo.¹³ Eroshenko dalam studinya juga mendapatkan hal yang sama dimana pemberian NAC inhalasi dapat menghambat pembentukan biofilm bakteri *E. faecalis*, *S.aureus*.¹⁴ Kelemahan studi *invivo* adalah strain bakteri yang tumbuh setiap pasien kemungkinan tidak sama. Barat melakukan studi *Methicillin Resistance Staphylococcus Aureus* (MRSA) pada ET dengan strain yang sama mendapatkan bakteri pembentuk biofilm lemah secara invitro dapat menjadi kuat secara *invivo*. Hal ini karena efek sinergis dari akumulasi sekret pada traktus sistem respirasi, kemampuan kolonisasi dan nutrisi yang tersedia.¹⁵

Dari segi luaran pasien, Qu juga mencatat insidensi VAP lebih rendah pada grup yang diberikan NAC dibanding plasebo. Terkait insidensi VAP, hasil yang sama juga didapatkan oleh Sharafkah pada tahun 2018 bahwa insidensi VAP lebih rendah pada pasien yang diberikan NAC oral dibandingkan placebo.¹⁶ Dari kedua penelitian ini dapat dilihat adanya kemungkinan menurunnya insidensi VAP dikarenakan pengaruh dari pemberian NAC. Namun, pada pemberian secara oral Yin pada tahun 2018, mendapatkan hasil yang berbeda dimana pemberian NAC secara oral akan berinteraksi dengan serum ferritin tubuh yang meningkatkan pertumbuhan biofilm *P.aeruginosa* dan *S.aureus*.¹⁷

Pada penggunaan klinis, Guo dalam studinya tentang pemberian NAC pada tindakan *bronchoscopy alveolar lavage* pada pasien dengan VAP berat, didapatkan hasil waktu penggunaan ventilasi mekanik dan pemberian antibiotik menjadi lebih singkat.¹⁸ Dibandingkan dalam bentuk plankton, bakteri dalam biofilm lebih tahan terhadap sapuan dan pembersihan oleh saliva, kurangnya nutrisi, perubahan pH, radikal bebas, desinfektan, antibiotik dan fagositosis. Karena itu, bakteri pembentuk biofilm rentan sekali terjadi resistensi antibiotik. Dari studi-studi diatas, baik secara invitro maupun *invivo* NAC selain sebagai mukolitik juga memiliki pengaruh terhadap pembentukan biofilm bakteri.⁶

Mekanisme kerja NAC dalam menghambat biofilm secara pasti belum diketahui, beberapa teori menyebutkan NAC menghambat adesi bakteri dan gugus S-H pada NAC akan menghambat produksi EPS dengan cara merusak ikatan protein disulfida (S-S).¹⁹ Pada penelitian ini, semua bakteri yang tumbuh merupakan bakteri yang sering menyebabkan pneumonia pada pasien yang terpasang *ventilator associated pneumonia* (VAP). Walaupun secara morfologi beberapa bakteri berbeda, namun hanya *A.baumannii* yang secara statistik terdapat perbedaan antara kedua kelompok. Secara morfologi, *A.Baumannii* tidak memiliki flagela. Bakteri yang memiliki flagela lebih motil dibandingkan yang tidak. Bakteri yang memiliki fimbria (pili) lebih mudah melekat dan ujung dari fimbria mengandung lektin yang berfungsi untuk mengikat manose dan juga untuk merekat dengan bakteri lain. *A.baumannii* merupakan bakteri yang tidak memiliki flagela namun memiliki fimbriae. Selain fimbria beberapa bakteri seperti pada *S.Aureus* memproduksi protein spesifik untuk melekatkan matriks ekstraseluler bakteri ke permukaan yang disebut *Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules* (MSCRAMMs). Bakteri *S.Aureus* walaupun tidak memiliki fimbria namun dapat melekat dan memiliki kemampuan membentuk biofilm.^{6,10}

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan pengamatan klinis subjek penelitian. Belum dapat dibuktikan terbentuknya biofilm tersebut juga berhubungan dengan insidensi VAP dan lama penggunaan antibiotik.

SIMPULAN

Semua *isolate* bakteri yang diambil dari subyek penelitian baik pada kelompok yang diberikan NAC maupun plasebo mampu membentuk biofilm. Pemberian nebulisasi *N-acetylcysteine* berkaitan dengan penurunan kemampuan *isolate* bakteri pembentuk biofilm kuat.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penulisan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Diaconu O, Siriopol I, Poloşanu LI, Grigoraş I. Endotracheal Tube Biofilm and its Impact on the Pathogenesis of Ventilator-Associated Pneumonia. *J Crit Care Med* (Targu Mures). 2018; 4(2):50-5.
2. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, Sahuquillo JM, Gonzalez E, Calleja I, Menendez R, Bonastre J. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Crit Care*. 2012; 16(3):R93.
3. Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc*. 2018; 81(1):7-11.
4. Fu J, Zhang Y, Lin S, Zhang W, Shu G, Lin J, et al. Strategies for Interfering With Bacterial Early Stage Biofilms. *Front Microbiol*. 2021;12:675843.
5. Kharel S, Bist A, Mishra SK. Ventilator-associated pneumonia among ICU patients in WHO Southeast Asian region: A systematic review. *PLoS One*. 2021;16(3):e0247832.
6. Jefferson KK. What drives bacteria to produce a biofilm?. *FEMS Microbiol Lett*. 2004;236(2):163-73.
7. Zhao T, Liu Y. N-acetylcysteine inhibit biofilms produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol*. 2010;10:140.
8. Harun SR, Putra ST, Chair I, Sastroasmoro S. Uji Klinis. In: Sastroasmoro S, Ismael S, editors. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. 5th ed. Jakarta: Sagung Seto; 2014.
9. Merrit JH, Kadouri DE, Toole GA. Current Protocols in Microbiology. Coico R, McBride A, Quarles JM, Stevenson B, Taylor RK, editors. *Current Protocols in Microbiology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2005.
10. Murray PR, Rosenthal KS, Michael AP. *Medical Microbiology*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.
11. Olofsson AC, Hermansson M, Elwing H. N-acetyl-L-cysteine affects growth, extracellular polysaccharide production, and bacterial biofilm formation on solid surfaces.

- Appl Environ Microbiol. 2003;69(8):4814-22.
12. Costa F, Sousa DM, Parreira P, Lamghari M, Gomes P, Martins MCL. N-acetylcysteine-functionalized coating avoids bacterial adhesion and biofilm formation. *Sci Rep*. 2017;7(1). Doi: 10.1038/s41598-017-17310-4.
13. Qu D, Ren XX, Guo LY, Liang JX, Xu WJ, Han YH, et al. [Effect of N-acetylcysteine inhalation on ventilator-associated pneumonia caused by biofilm in endotracheal tubes]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2016;54(4):278-82. Chinese.
14. Eroshenko D, Polyudova T, Korobov V. N-acetylcysteine inhibits growth, adhesion and biofilm formation of Gram-positive skin pathogens. *Microb Pathog*. 2017;105:145-52.
15. Fernández-Barat L, Ben-Aicha S, Motos A, Vila J, Marco F, Rigol M, et al. Assessment of in vivo versus in vitro biofilm formation of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from endotracheal tubes. *Sci Rep*. 2018;8(1):11906.
16. Sharafkhah M, Abdolrazaghnejad A, Zarinfar N, Mohammadbeigi A, Massoudifar A, Abaszadeh S. Safety and efficacy of N-acetylcysteine for prophylaxis of ventilator-associated pneumonia: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. *Med Gas Res*. 2018;8(1):19-23.
17. Yin S, Jiang B, Huang G, Zhang Y, You B, Chen Y, et al. The Interaction of N-Acetylcysteine and Serum Transferrin Promotes Bacterial Biofilm Formation. *Cell Physiol Biochem*. 2018;45(4):1399-409.
18. Guo J, Wang P, Ma X. Effect of acetylcysteine solution combined with fiberoptic bronchoscopy alveolar lavage in elderly patients with severe ventilator-associated pneumonia. *Trop J Pharm Res*. 2021;20(5):1061-6.
19. Guerini M, Condrò G, Friuli V, Maggi L, Perugini P. N-acetylcysteine (NAC) and Its Role in Clinical Practice Management of Cystic Fibrosis (CF): A Review. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022;15(2):217.