

УДК 618.13-002-008.87-085

НОВЫЙ ЖИДКИЙ ПРОБИОТИК «LL-КОМПЛЕКС», ЕГО ЭФФЕКТЫ, КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ У ПАЦИЕНТОК С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА

Н.Н. Еланкова, ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия»

Еланкова Наталья Николаевна – e-mail: NNBelkina@gmail.com

В статье продемонстрированы различные эффекты жидкого пробиотика «LL-комплекс». Особое внимание уделено его антикандидозной активности, антибиотикорезистентности препарата и антагонистической активности по отношению к некоторым видам условно-патогенным микроорганизмам (УПМ). Проанализирован результат лечения 80 пациенток с воспалительными заболеваниями органов малого таза в стадии обострения (ВЗОМТ), осложненных нарушением микробиоценозов вагинального, кишечного и мочеиспускательного трактов, которым в комплексную противовоспалительную терапию был включен жидкий пробиотик «LL-комплекс». Данные бактериологического исследования продемонстрировали улучшение и нормализацию состояния микробиоценозов указанных биотопов.

Ключевые слова: воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), дисбактериоз, пробиотики.

The different effects of liquid probiotic «LL-complex» are shown in the article. The special attention is given to its anti-candidiasis activity, antibioticoresistance of the preparation and antagonistic activity relative to some types of opportunistic microorganisms. There has been analyzed the result of treatment of 80 women-patients with inflammatory diseases of the organs of small pelvis in the exacerbation stage (IDOSP), complicated by the disorders of microbiocoenoses of vaginal, intestinal and urethra tracts, for whose complex anti-inflammatory therapy there was included liquid probiotic «LL-complex». The data of bacteriological examination showed the improvement and normalization of the condition of microbiocoenoses of the given biotypes.

Key words: inflammatory diseases of the organs of small pelvis (IDOSP), dysbacteriosis, probiotics.

В комплексном лечении воспалительных заболеваний женских половых органов успешно используется антибактериальная терапия, которая, к сожалению, нередко приводит к новой проблеме – возрастанию роли эндогенной условно-патогенной микрофлоры в течение воспалительных заболеваний и формированию стойкого дисбактериоза в том числе кандидозной природы. С целью предупреждения кандидоза одновременно с антибиотиками, как правило, назначают антимикотики, а в качестве профилактики дисбактериозов другой этиологии все шире используются пробиотические препараты.

В составе пробиотиков используют различные виды микроорганизмов – представителей нормальной микрофлоры, обладающих выраженными антагонистическими свойствами к большинству патогенным и УПМ [1]. Однако дрожжеподобные грибы являются наиболее устойчивыми к действию бактерицидных субстанций кишечной палочки, бифидобактерий, лактобацилл, утвержденных в качестве производственных.

Большинство авторов указывают на чувствительность штаммов *Candida spp.* к действию лактобацилл, являющихся физиологическими антагонистами дрожжеподобных грибов, которые подавляют прикрепление кандид к клеткам эпителия, размножение и рост дрожжеподобных грибов (фунгистатический эффект), или даже оказывают фунгицидное действие [2].

Целью пробиотикотерапии при дисбактериозах является восстановление микробиоценоза и уменьшение токсического действия УПМ на организм. Кроме того, при дисбактериозе кандидозной природы пробиотики снижают токсическое действие не только самих дрожжеподобных грибов, но и антимикотиков, обладающих выраженными побочными эффектами на паренхиматозные органы, прежде всего печень и почки. Известно, что все пробиотики обладают стимулирующим эффектом на иммунную систему [3, 4].

Цель данной работы – изучить эффективность нового жидкого пробиотика (LL-комплекс) при лечении воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ).

Материалы и методы

Обследовано 80 пациенток с обострением хронического воспалительного процесса органов малого таза. Больным проводились общие клинические лабораторные, ультразвуковые, микробиологические методы исследования, ПЦР-диагностика отделяемого цервикального канала.

Мы сочли целесообразным классифицировать дисбиотические состояния вагинального тракта по результатам бактериологического и ПЦР-методов обследований, учитывающих количественное содержание облигатных анаэробных микроорганизмов (лакто- и бифидобактерий) и условно-патогенных бактерий (норма, ДI, ДII, ДIII). Особое внимание было уделено дрожжеподобным грибам, которые, часто размножаясь в больших количествах, вызывают развитие кандидозного вагинита и осложняют течение основного воспалительного процесса.

Критерии оценки состояния микрофлоры кишечника многократно описаны в литературе и в приказе МЗРФ № 231 при утверждении «Протокола ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500. 11.0004 от 09.06.2003).

Результаты исследований

На первом этапе настоящего исследования проводился доклинический эксперимент в отношении наличия антаго-

нистической активности пробиотика LL-комплекса к некоторым видам УПМ, антикандидозной активности и антибиотикорезистентности.

На основе штаммов лактобактерий 2 видов в Нижегородском НИИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной Роспотребнадзора в лаборатории микробиоценозов и конструирования пробиотиков был разработан новый пробиотик LL-комплекс в форме БАД к пище.

«LL-комплекс» (БАД) представляет собой бактериальный концентрат лактобактерий (*L. plantarum* и *L. fermentum*), образующий устойчивую систему, обладающую признаками высокого антагонизма по отношению к патогенным и условно-патогенным бактериям, в том числе дрожжеподобным грибам.

Из литературы известно, что разные виды лактобацилл в том числе *L. plantarum* и *L. fermentum* продуцируют разные виды бактериоцинов (Elmer G.W., Surawicz C.M., McFarland L.V., 1996), поэтому в период доклинического эксперимента нами изучалась антагонистическая активность выбранных штаммов по отношению к 44 культурам дрожжеподобных грибов рода *Candida* по отдельности (таблица 1).

ТАБЛИЦА 1.
Антагонистическая активность штаммов лактобацилл, их комплекса по отношению к 44 культурам грибов

Исследуемый штамм	Отсутствие антагонистической активности		Низкая степень антагонистической активности		Высокая степень антагонистической активности	
	Абс.	(%)	Абс.	(%)	Абс.	(%)
<i>L. plantarum</i>	7	15,9±4,2	19	43,2±7,8	18	*40,9±7,8
<i>L. fermentum</i>	5	11,38±3,7	21	47,8±7,8	18	*40,9±7,8
<i>L. plantarum</i> + <i>L. fermentum</i>	3	6,9±1,2	12	27,2±7,1	29	*65,9±7,1

Примечание: * - достоверность различия между антагонистической активностью штаммов и комплекса лактобацилл $p=0,01$.

Как следует из таблицы 1, полученные результаты существенно не различались. Отсутствие антагонистической активности зарегистрировано в отношении незначительного числа штаммов *C. albicans*, а также к грибам родов *C. crusei*, *C. glabrata*. Абсолютное число изолятов было в той или иной степени чувствительно к действию лактобацилл.

Далее мы отметили, что *L. plantarum* и *L. fermentum*, соединенные вместе, демонстрируют явление синергизма. Антагонистическая активность комплекса лактобацилл оказалась значительно выше, чем у каждого штамма в отдельности ($p=0,01$).

Таким образом, полученные нами результаты подтвердили наличие физиологического антагонизма лактобацилл в отношении дрожжеподобных грибов рода *Candida*, отмеченного другими авторами. Стимулирующего действия лактобацилл на рост *C. albicans* не было выявлено ни в одном случае проведенного эксперимента: лактобациллы демонстрировали либо фунгицидный, либо фунгистатический эффект.

При конструировании пробиотика LL-комплекса штаммы-продуценты культивировали на специально сконструированной среде, являющейся основой препарата, не содержащей глюкозы и лактозы, которые обычно входят в питательные среды для выращивания молочнокислых бактерий. В ней

также нет химических добавок, консервантов (высокомолекулярных растворенных белков, которые могли бы быть антигенами). В 1 мл препарата содержится 10^9 – 10^{10} живых микробных клеток. Изученные штаммы обладают хромосомной устойчивостью к большому набору антибиотиков, следовательно LL-комплекс можно назначать на фоне антибиотикотерапии с учетом фармакокинетики последних. [5].

ТАБЛИЦА 2.

Антагонистическая активность лактобацилл видов *L. plantarum* и *L. fermentum* по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам

Тест-штаммы	Штаммы лактобацилл					
	Зона задержки роста культур (в мм)					
	<i>L. fermentum</i> + <i>L. plantarum</i>	<i>L. plantarum</i> 8RA-3	<i>L. fermentum</i> 90TC-4	<i>L. paracasei</i> spp. <i>Paracasei</i> 37	<i>L. plantarum</i> 38	<i>L. fermentum</i> 39
<i>C. freundii</i> 15	роста нет	14	11	1,2	10	13
<i>C. freundii</i> 1010	роста нет	28	роста нет	—	—	28
<i>S. aureus</i> 107	роста нет	31	роста нет	—	—	30
<i>S. aureus</i> 22		14,2	15,3	16,2	17,2	17,6
<i>S. aureus</i> 795		15,6	14,5	17,6	18,3	16,3
<i>S. epidermidis</i> 57	роста нет	13,7	12,6	18,3	17	18,2
<i>S. epidermidis</i> 32		12,3	14,5	18,5	18,1	16,2
<i>E. coli</i> 824		15,2	15,3	12,2	11	16
<i>E. coli</i> 17		14,6	12,3	13,6	10,5	14,6
<i>E. coli</i> (лак.-)9064	роста нет	роста нет	роста нет	—	—	роста нет
<i>K. pneumoniae</i> 712	роста нет	роста нет	роста нет	—	—	роста нет
<i>K. pneumoniae</i> 842		12,5	1,5	1,6	12	18,2
<i>S. enteritidis</i> 383	роста нет	роста нет	роста нет	—	—	роста нет
<i>S. flexneri</i> 615	роста нет	роста нет	роста нет	—	—	роста нет
<i>S. sonnei</i> 837	роста нет	роста нет	роста нет	—	—	роста нет
<i>C. albicans</i> 60	роста нет	26	24	—	—	33
<i>C. albicans</i> 57	роста нет	10,2	6,2	4	5,2	17,6
<i>C. albicans</i> 31	роста нет	7	5	5	7	20

Препарат назначают совместно с антимикотической терапией для усиления ее специфического действия и уменьшения побочных эффектов. Определение жизнеспособности лактобактерий проводилось с использованием методики, основанной на способности лактобактерий расти в питательных средах, разлитых высоким столбиком в пробирках, при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и образовывать в них через 24–72 часа типичные по морфологическим характеристикам колонии. Подготовку проб и культивирование микроорганизмов проводили в соответствии с общепринятыми методами, описанными в технологической документации. Жизнеспособность клеток лактобактерий в пробиотике LL-комплекс при хранении в течение 60 суток при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ сохраняется в пределах допустимого норматива. Определение антагонистической активности по отношению к тест-культурам проводили методом культивирования тест-культур в жидких питательных средах (МРС и тиогликолевая среда) с внесением пробиотика.

Контролем служило аналогичное количество микробной взвеси каждого тест-штамма, внесенного в выше названные среды без добавления пробиотика. В исследовании использовали следующие тест-микроорганизмы указанные в таблице. Через 72 часа культивирования тест-культур в жидких питательных средах с добавлением пробиотика

LL-комплекс по 1,0 мл отмечена гибель тест-культур. Как следует из таблицы 2 степень антагонистической активности пробиотика составила 100% в отношении всех микроорганизмов. Данные представлены в таблице 2.

Исследована также, стойчивость лактобацилл к антибиотикам исследовали в отношении 8 антибактериальных средств: тетрациклин, капамицин, ампициллин, хлорамфеникол, рифампицин, налидиксовая кислота, гентамицин, сульфаниламиды. Минимальную ингибирующую концентрацию антибиотика устанавливали с учетом терапевтических концентраций данных антибиотиков в крови. Использовали метод серийных разведений в пробирках в объеме 10 см в среде МРС-1.

Результаты испытаний свидетельствуют об устойчивости лактобацилл, входящих в состав пробиотика LL-комплекс к терапевтическим концентрациям антибиотиков. Чувствительность штаммов лактобактерий к антибиотикам не менялась в зависимости от сроков хранения пробиотика в течение 2 месяцев.

ТАБЛИЦА 3.

Антибиотикорезистентность лактобактерий

Вид	Кол-во изученных штаммов	Количество резистентных штаммов	Минимальные Подавляющие Концентрации (МПК), в мкг/мл							
			Тетрациклин	Капамицин	Ампициллин	Хлор-аифеникол	Рифампицин	Налидиксовая кислота	Гентамицин	Сульфаниламиды
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	И
<i>L. plantarum</i>	15	13	25	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	50	>12800
<i>L. fermentum</i>	9	6	25	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	50	>12800
<i>L. rhamnosus</i>	4	2	25	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	50	>12800
<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	14	1	25	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	25	>12800
<i>L. brevis</i>	5	1	200	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	25	>12800
<i>L. buchneri</i>	1	1	12,05	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	50	>12800
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Lactis</i>	1	1	25	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	50	>12800
<i>L. confusus</i>	1	1	12,5	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	50	>12800
<i>L. helveticus</i>	1	1	25	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	>500	50	>12800

Препарат выпускается во флаконах по 5 мл. Условия хранения при температуре бытового холодильника $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

Срок годности 60 дней со дня изготовления.

Основными показаниями к применению являются:

- острые и хронические воспалительные заболевания, требующие длительного лечения антибиотиками и химиопрепаратами,
- хронические и соматические заболевания, осложненные дисбактериозом любой локализации, особенно кандидозной природы.

Второй этап нашего исследования – клиническая часть.

Под наблюдение находилось 80 пациенток репродуктивного возраста (от 16 до 40 лет). У всех женщин поставлен диагноз хронического аднексита в стадии обострения, у 10 из них процесс осложнился пельвиоперитонитом.

Нарушения менструального цикла отмечались у 27,2% женщин, репродуктивная функция была реализована у 47% пациенток.

Оценка гинекологического анамнеза больных показала, что все пациентки имели обострение длительно текущего хронического воспаления гениталий.

У всех женщин наряду с традиционными клинико-лабораторными исследованиями были проведены бактериологические посевы вагинального секрета, изучалась микрофлора кишечника и по показаниям мочеиспускательного тракта.

У 47 человек проведено ПЦР-исследование, позволившее выявить некоторые внутриклеточные микроорганизмы, такие как хламидии, уреаплазмы и микоплазмы. Кроме того, методом ПЦР обнаруживали анаэробные бактерии: бактерии и пептострептококки.

Нормальная микрофлора вагинального тракта выявлена только у 4 (5%) пациенток, кишечника также у 4 человек (5%). У остальных диагностированы нарушения микробиоценозов той или иной степени выраженности, как в вагинальном биотопе, так и в кишечнике. Дисбактериоз влагалища III ст. диагностирован у 34 пациенток (42,5%), дисбактериоз кишечника III ст. у 13 (16,35%).

По результатам ПЦР-диагностики абсолютные патогены, такие как гонококки, трихомонады не выделялись ни в одном случае, хламидии обнаружены у 8 человек.

Частота выделения условно-патогенных микроорганизмов (по данным бактериологического обследования и метода ПЦР) свидетельствует о широком распространении их у пациенток с ВЗОМТ, при этом отмечается микстинфицирование по 3, 4 и более видам одновременно.

Разнообразие различных видов УПМ 10^3 и более в вагинальном секрете и 10^5 и более в кишечнике высевались более чем в 50% случаев. Обращало на себя внимание частое выделение дрожжеподобных грибов рода *Candida*. С первых дней заболевания до назначения лечения грибы рода *Candida* обнаружены в диагностическом титре в вагинальном секрете у 27 (33,75%) человек, а общее количество женщин выделявших дрожжеподобные грибы было 38 (47,5%).

Из кишечника грибы рода *Candida* высеваны у 48 (60%) пациенток, из них у 33 (1,25%) в диагностически значимых количествах.

У 16 женщин с дизурическими расстройствами было проведено бактериологическое исследование мочи, при этом у 12 из них также выделены дрожжеподобные грибы рода *Candida*, у 2 высеваны стафилококки, у 2 моча была стерильна.

Согласно разработанным и принятым стандартам лечения ВЗОМТ в комплексную терапию наряду с антибактериальными средствами назначают и антимикотики как средство профилактики кандидоза. В нашей работе такая тактика более чем оправдана, т. к. у взятых под наблюдение 80 пациенток дрожжеподобные грибы рода кандиды обнаружены при первом обследовании, проведенном до лечения, как в вагинальном секрете, так и в фекалиях.

Больные были разделены на 2 группы по 40 человек каждая. В 1-ю группу – основную – включены женщины с ВЗОМТ, у которых при первом обследовании в вагинальном секрете обнаружены *Candida* в диагностически значимом титре (у 34 грибы рода *Candida* выявлены бактериологически, у 6 – микроскопически).

2-я группа (40 человек) составила группу сравнения, дрожжеподобные грибы не выделялись вообще или в титре диагностически незначимом.

Всем пациенткам основной группы наряду с общепринятыми лекарственными средствами в комплексную терапию с первого дня поступления был включен LL-комплекс (per os – в течение 3 недель, per vaginam – по 5 мл один раз в день на тампоне на 4 часа в течение 2 недель).

Возраст женщин в первой группе варьировал от 16 до 40 лет, в контрольной группе от 18 до 41 года. Время наступления менархе в опытной группе в среднем составляет 13 лет, в контрольной группе 12 лет.

Нарушения менструального цикла отмечались у 27,2% первой и второй группы.

Клинико-лабораторную эффективность лечения оценивали по срокам нахождения в стационаре, купированию болевого синдрома, нормализации температурной кривой.

Анализ температурной реакции выявил более быструю нормализацию показателей в основной группе (в среднем на 2 дня ранее) по сравнению с контрольной.

Болевой синдром купировался в основной группе в среднем на 4-й день, в контрольной на 6-й.

Длительность госпитализации в обеих группах не отличалась и составила 21 день.

До и после проведенной антибиотикотерапии у всех больных наряду с общепринятым клиническим обследованием была изучена микрофлора влагалища и кишечника.

В первой и во второй группах изначально нормоценоз наблюдался у 2 пациенток (5%), дисбактериоз второй и третьей степени в основной группе выявлен у 13 женщин (32,5%) и у 25 (62,5%) соответственно. В группе сравнения ДII и ДIII обнаружены у 9 (22,5%) и 8 (20%) пациенток. После проведенного лечения нормоценоз в основной группе наблюдался у 23 женщин (57,5%), в контрольной лишь у 7 (17,5%), дисбактериоз первой степени и в первой, и во второй группе был поставлен 8 пациенткам (20%). ДII и ДIII выявлен в основной группе у 6 женщин (15%) и 3 (7,5%) соответственно. В контрольной в 13 случаях (32,5%) обнаружен дисбактериоз второй степени, в 12 (30%) дисбактериоз третьей степени.

В основной группе микрофлора вагины значительно улучшилась у 33 пациенток (82,5%), в контрольной группе у 8 женщин (20%). Ухудшения состояния микрофлоры вагинального тракта в основной группе не наблюдалось, в контрольной группе у 17 больных, что составляет 42,5%.

Аналогичная ситуация наблюдается в состоянии микрофлоры кишечника. Так, сравнительные данные свидетельствуют о том, что после проведенного комплексного лечения ВЗОМТ, с включением в терапию LL-комплекса, состояние микрофлоры кишечника в основной группе улучшилось у 28 женщин (75,6%), осталось без динамики у 6 женщин (16,2%) и ухудшение микрофлоры наблюдалось у 3 пациенток (8,1%).

В контрольной же группе улучшение микрофлоры имело место у 5 пациенток (13,15%), оказалось без изменения у 17 (44,7%) женщин, у 16 (42,1%) выявлено ухудшение состояния кишечного биотопа.

После проведенной терапии ДII установлен: в первой группе в 8,9% случаев (7 чел.); во второй группе в 39,5% (15 чел.).

ДПП не выявлен в основной группе (ни в одном случае), а в контрольной 26,3% (10 чел.).

Результаты наших исследований показали, что нормализация микрофлоры кишечного и вагинального трактов в опытной группе наблюдалась у 51,35% (19) и 57,5% (23) соответственно, в контрольной группе лишь у 15,78% (6) и 17,5% (7).

Очевидно, что больше 50% женщин группы сравнения при выписке из стационара имеют дисбиотические нарушения вагинального и кишечного трактов второй и третьей степени, что является предрасполагающим фактором для хронизации и возникновения обострения заболевания.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования доказывают целесообразность включения в комплексное лечение нового пробиотика (LL-комплекс) всем пациенткам с ВЗОМТ, так

как он способствует улучшению и нормализации состояния микрофлоры урогенитального и кишечного трактов, тем самым снижая риск рецидивирования заболевания.



ЛИТЕРАТУРА

1. Шендеров Б.А. Пробиотики и функциональное питание. Их значение для сохранения и воспитания здорового человека. Москва. 2002.
2. Диагностика и биокоррекция нарушений антиинфекционного гомеостаза в системе «мать-дитя». Под ред. Ефимова Е.И., Соколовой К.Я. Нижний Новгород: НГМА, 2004. 271 с.
3. Зеленова Е.Г., Заимова М.И., Махрова Т.В. Кандиды: экология, морфо-функциональные особенности и факторы патогенности. Нижегородский медицинский журнал. 2002. № 1. С. 73-84.
4. Янковский Д.С. Состав и функции микробиоценозов различных биотопов человека. Здоровье женщины. 2003. № 4. С. 145.
5. Леванова Г.Ф., Ефимов Е.И. Сенотаксономия и геносистематика лактобацилл. Н. Новгород. 2009.