

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОБИОТИКОВ У БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЯМИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»
кафедра хирургии № 1
(зав. – д. мед. н., проф. Я.С. Березницкий)
ул. Дзержинского, 9, Днепропетровск, 49044, Украина
SE "Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine"
Department of Surgery N 1
Dzerzhinsky str., 9, Dnepropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: rob_molch@yahoo.com

Ключевые слова: опухоль, мочевого пузыря, пробиотики, инфекция мочевых путей
Key words: tumor, urinary bladder, probiotic, urinary tract infection

Реферат. Антимікробна активність пробіотиків у хворих з пухлинами сечового міхура. Молчанов Р.М. Хронічна інфекція сечових шляхів є фактором ризику, що сприяє погіршенню перебігу пухлин сечового міхура. Використання пробіотиків, що мають антагоністичний вплив на патогенну мікрофлору та імунокоригуючий ефект, для профілактики й лікування хронічної інфекції сечових шляхів у хворих на пухлини сечового міхура, є актуальним і перспективним напрямком. Метою дослідження було вивчення антимікробного і протизапального ефекту однократної інстиляції лактобактерій і аерококів у сечовий міхур у хворих на пухлини сечового міхура. 35 хворим на пухлини сечового міхура в передопераційному періоді здійснювали однократну інстиляцію пробіотиків лактобактерину та а-бактерину. Контроль бактеріурії, лейкоцитурії, вмісту лактобактерій і аерококів у сечі здійснювали перед і через 1, 3, 6 й 24 години після інстиляції. Виявлено вірогідне зниження рівня бактеріурії в обох групах хворих. Вміст лактобактерій і аерококів у сечі пацієнтів поступово знижувався аж до повної елімінації через 24 години (в 1 пацієнта, який одержував лактобактерин (12,5%), і в 9 пацієнтів, які одержували а-бактерин (40,9%). Дослідження лейкоцитурії не виявило вірогідної динаміки протягом періоду спостереження в обох групах. Таким чином, внутрішньоміхурова інстиляція пробіотиків лактобактерину й а-бактерину приводить до пригнічення уропатогенної мікрофлори у хворих на пухлини сечового міхура; у більшості пацієнтів мимовільна елімінація лактобактерій і аерококів з сечового міхура відбувається протягом 1 доби.

Abstract. Antibacterial activity of probiotics in bladder tumor patients. Molchanov R.N. The chronic urinary tract infection (UTI) is a risk factor that worsens a natural course of bladder tumors. Using of probiotics, possessing antagonistic influence on pathogenic microflora and immunocorrection effect, for preventive maintenance and treatment of a chronic UTI in bladder tumor patients is an actual and perspective direction. The goal of the research was studying antimicrobial and anti-inflammatory effect of a single bladder instillation of either lactobacilli or aerococci in bladder tumor patients. In the preoperative period a single bladder instillation with either lactobacterin or a-bacterin preparation to 35 bladder tumor patients was done. Bacteriuria, leucocyturia, lactobacilli and aerococci count in urine were measured before and in 1, 3, 6 and 24 hours after instillation. Decrease in bacteriuria level in both groups of patients was revealed. Lactobacilli and aerococci count in urine gradually decreased up to complete elimination in 24 hours (in 1 patient who received lactobacterin (12,5 %) and in 9 patients who received a-bacterin (40,9 %). Leucocyturia study did not show statistically confidence dynamics throughout the observation period in both groups. Thus, bladder instillation with lactobacterin or a-bacterin leads to suppression of uropathogenic microflora in bladder tumor patients; in the majority of patients spontaneous elimination of lactobacilli and aerococci occurs within 24 hours.

Инфекция мочевых путей (ИМП) является одним из наиболее распространенных видов инфекций. Неосложненные ИМП чаще встречаются у женщин и представлены острыми циститами и пиелонефритами. Осложненными ИМП болеют как мужчины, так и женщины разных возрастных категорий. Осложненная ИМП в большинстве случаев имеет хроническое течение и для нее характерно наличие функциональных

или органических патологических изменений мочевых путей [10]. Хроническая инфекция, в частности хронический цистит, является фактором, предрасполагающим и сопутствующим перерождению переходноклеточного эпителия, приводящему к развитию опухолей мочевого пузыря, особенно при хроническом воздействии производственных канцерогенов и радиоактивного излучения [6, 15]. Кроме того, хронический

цистит является одним из важных факторов развития плоскоклеточного рака или плоскоклеточной метаплазии на фоне переходноклеточного рака мочевого пузыря, для которых характерно более агрессивное течение [13]. Часто встречающаяся полирезистентность микрофлоры и ослабление как местного, так и общего иммунитета у пациентов, страдающих опухолями мочевого пузыря, являются факторами, осложняющими лечение хронической инфекции мочевых путей [7, 9].

В последнее время существует множество публикаций об эффективности использования пробиотиков для лечения инфекций различных локализаций. Проявляя антагонистические свойства в отношении патогенной микрофлоры, пробиотики обладают способностью к стимуляции иммунитета [8].

Наиболее часто применяемыми в лечебной практике пробиотиками являются лактобактерии, которые используются для лечения воспалительных процессов различных локализаций. Пероральное использование лактобактерий является признанным методом лечения дисбиозов [11]. Среди пробиотиков также заслуживают внимания *Aerococcus viridans* 167, входящий в состав препарата а-бактерин, который используется для профилактики и лечения дисбактериозов и гнойно-воспалительных процессов различных локализаций [4]. Несмотря на эффективность этих препаратов, применение их в урологической практике ограничено профилактикой инфекции мочевых путей у женщин. Данные о противоопухолевой активности некоторых штаммов лактобактерий и аэрококков получены пока только в экспериментальных исследованиях и нуждаются в дальнейшем изучении [2, 3, 12].

Учитывая особенности антагонистического воздействия данных препаратов на патогенную микрофлору, а также наличие эффекта иммунной стимуляции, применение данных препаратов для профилактики лечения хронической инфекции мочевых путей у пациентов, страдающих раком мочевого пузыря, является актуальной и перспективной проблемой.

Цель исследования - изучить антимикробный и противовоспалительный эффект однократной инстилляцией в мочевой пузырь препаратов лактобактерий и аэрококков у пациентов с опухолями мочевого пузыря.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Обследовано 35 пациентов (мужчин - 30, женщин-5), поступивших для лечения в урологическое отделение КУ «Областная клиническая

больница им. И.И. Мечникова» стационар с диагнозом опухоль мочевого пузыря. Средний возраст больных составил 63,1 года (от 35 до 82 лет). Все пациенты были детально ознакомлены с целью и особенностями проведения процедуры, подписано информированное согласие. После мочеиспускания, по катетеру, введенному в мочевой пузырь, вводили 5 ед. препарата лактобактерин (Биофарма), разведенного в 10 мл физиологического раствора NaCl, содержащих 10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ)/мл *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus fermentum* или 10 мл препарата а-бактерин, содержащего 10^8 бактерий/мл *Aerococcus viridans* 167. Инстилляцией препаратов проводилась однократно за 1-5 суток до оперативного вмешательства. Исследовали образцы мочи, полученной путем самостоятельного мочеиспускания, в течение 1 часа до и через 1, 3, 6 и 24 часа после инстилляций. Проводили микроскопическое исследование с подсчетом количества лейкоцитов и эритроцитов в 1 мл мочи с использованием камеры Горяева. Бактериологическое исследование проводили путем посева на среду Эндо, кровяной агар с последующей биохимической идентификацией возбудителей. Количественный учет бактерий в моче проводили с использованием метода разведений. Для выявления содержания лактобактерий и аэрококков использовали соответственно среду Elliker и индикаторную питательную среду, содержащую йодид калия.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистики Statistica 6.0. После проведения теста на нормальность распределения использовали непараметрическую статистику Фридмана, Манна-Уитни. Для удобства обработки результатов проведения количество бактерий и лейкоцитов предварительно подвергали логарифмированию. Разницу результатов считали статистически достоверной при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из 35 пациентов, которым было проведено бактериологическое и микроскопическое исследование мочи, у 5 (14,3%) посева роста не дали. Из 30 пациентов у 2 высеяны микробные ассоциации (*Ent.faecalis*+*E.coli* и *Ent.faecalis*+*St.epidermidis*), у остальных 28 высеяны монокультуры, среди которых преобладали штаммы *St.epidermidis* (табл. 1). Истинная бактериурия ($>100\ 000$ КОЕ/мл.) наблюдалась у 15 пациентов, в то время как лейкоцитурия, свидетельствующая о наличии воспалительного процесса мочевых путей (более 4000/мл), наблюдалась у 24 пациентов.

**Результаты посева мочи больных с опухолями мочевого пузыря
при поступлении в стационар**

Штамм	Количество	Микробные ассоциации	Истинная бактериурия	Лейкоцитурия
Отсутствие роста	5(14,3%)	-	-	1(2,9%)
Citr. freundii	1 (2,9%)	-	1(2,9 %)	1(2,9%)
E.coli	4 (11,4%)	-	2 (5,8%)	2(5,8%)
Ent.faecalis	4(11,4%)	1(2,9 %)	3 (8,3%)	3(8,3%)
Kl. pneumoniae	1 (2,9%)	-	1(2,9 %)	1(2,9%)
Ps. aeruginosa	4 (11,4%)	-	2(5,8%)	4(11,4%)
St.epidermidis	12 (34,3%)	1(2,9 %)	4(11,4%)	10 (28,6%)
St.saprophyticus	4 (11,4%)	-	2(5,8%)	2(5,8%)
Всего	35 (100%)	2 (5,8%)	15 (42,9%)	24(68,6%)

Бактериурия является важным фактором в диагностике мочевой инфекции. Понятие «истинной» бактериурии (10^5 КОЕ/мл), предложенное Е.Н. Kass (1960) для диагностики пиелонефрита у беременных, по-прежнему широко используется в диагностике инфекций мочевых путей. Тем не менее, установлено, что не существует универсального фиксированного показателя значимой бактериурии, применимого ко всем случаям инфекции мочевых путей. Исследование пиурии является одним из способов дифференцирования колонизации мочевых путей от инфекции [1].

Исследование динамики бактериурии через 1, 3, 6 и 24 часа после инстилляций пробиотиков в мочевой пузырь (табл. 2) показало наличие достоверных различий при исследовании динамики бактериурии как в группе пациентов, получавших лактобактерин ($\chi^2=15,79$, $p<0,003$), так и А-бактерин ($\chi^2=19,22$, $p<0,0007$), при этом, бактериурия максимально снижалась в промежутке 3-6 часов, после чего наблюдалась обратная тенденция. Известно, что лактобактерии и аэрококки обладают антагонистическими свойствами в отношении патогенной микрофлоры, что дает возможность их использования для коррекции локальных микробиоценозов. Известно, что штаммы лактобактерий подавляют рост уропатогенной *E. coli*, адгезию патогенной флоры к уротелию и могут быть эффективно использо-

ваны для профилактики цистита у женщин [14, 16]. Антагонистическое действие аэрококков установлено при лечении гнойно-воспалительных процессов различной локализации [4].

Исследование лейкоцитурии в группах сравнения не выявило достоверной динамики в течение периода наблюдения ни у пациентов, получавших лактобактерин ($\chi^2=2,63$, $p<0,62$), ни а-бактерин ($\chi^2=6,36$, $p<0,17$). Отсутствие динамики количества лейкоцитов в ответ на снижение бактериурии вероятно связано с ограниченным временем воздействия пробиотика. При этом подавление патогенных бактерий происходит намного быстрее, чем реакция местного иммунитета на снижение количества патогенной микрофлоры.

При межгрупповом сравнении уровней бактериурии и лейкоцитурии с использованием критерия Манна-Уитни достоверных различий не выявлено.

Исследование содержания бактерий-пробиотиков в моче пациентов через 1, 3, 6 и 24 часа после инстилляций показало достоверное снижение их содержания как в группе, получавшей лактобактерин ($\chi^2=22,95$, $p<0,00004$), так и а-бактерин ($\chi^2=36,69$, $p<0,000001$), вплоть до полной элиминации к 24 часам (у 1 пациента, получавшего лактобактерин (12,5%), и у 9 пациентов, получавших а-бактерин (40,9%)).

Динамика показателей бактериурии и пиурии после однократной внутривузырной инстилляцией а-бактерина и лактобактерина (M±m)

Показатели	Сроки	Группы		Критерий Манна-Уитни	
		лактобактерин (n=8)	а-бактерин (n=22)	Z	p
Бактериурия (lg)	до	4,78±0,7	3,72±1,47	0,69	0,49
	1 ч	4,34±1,22	3,47±1,43	0,85	0,39
	3 ч	4,21±1,58	2,63±0,96	1,37	0,17
	6 ч	2,81±1,07	3,04±1,19	0,92	0,36
	24 ч	3,13±1,59	3,32±1,07	0,21	0,83
Критерий Фридмана	χ^2	15,78	19,21	-	-
	p<	0,003	0,0007	-	-
Пиурия	до	4,61±0,91	4,41±1,23	0,32	0,75
	1 ч	4,71±0,80	4,80±1,01	0	1
	3 ч	4,49±0,98	4,72±0,50	0,44	0,66
	6 ч	4,21±0,92	4,82±1,04	1,79	0,07
	24 ч	4,41±0,79	4,46±0,83	0,14	0,88
Критерий Фридмана	χ^2	2,63	6,33	-	-
	p<	0,62	0,17	-	-
лактобактерии, аэрококки	1 ч	8,64±0,78	4,06±0,65	4,31	0,00001
	3 ч	6,80±1,29	3,57±0,68	3,91	0,00009
	6 ч	4,38±1,61	2,31± 0,43	3,55	0,0004
	24 ч	2,30±1,70	0,61±0,96	2,09	0,03
Критерий Фридмана	χ^2	22,95	36,69	-	-
	p<	0,00004	0,000001	-	-

ВЫВОДЫ

1. Однократная внутривузырная инстилляцией пробиотиков лактобактерина и а-бактерина у больных с опухолями мочевого пузыря приводит к подавлению уропатогенной микрофлоры.

2. У большинства пациентов самопроизвольная элиминация лактобактерий и аэрококков происходит в течение 1 суток, что свидетельствует о необходимости повторных введений препаратов для достижения пролонгированного антагонистического эффекта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере для профессионалов. - 2-е изд. / В. Боровиков. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.
 2. Молчанов Р.М. Вплив бактеріального фактора на розвиток рака сечового міхура в експерименті

на тваринах / Р.М. Молчанов, А.С.Короленко // Урологія. – 2006. – № 4 – С. 35-37.
 3. Риженко С.А. Дослідження дії пробіотичного штаму *A. viridans* 167 на перещеплювані культури клітин /

С.А. Риженко, Г.М. Кременчуцкий, М.О. Бредіхіна // Ан. Инст. Мечнікова -2007. – № 1. – С. 19-22.

4. Роль микроэкологии организма человека и принципы ее коррекции: (Теоретические и практические подходы к регуляции микробиологии человека) / Г.Н. Кременчуцкий (ред.). — Д.: Пороги, 2003. — 232 с.

5. A pilot study evaluating the safety and effectiveness of Lactobacillus vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection / S. Uehara, K. Monden, K. Nomoto [et al.] // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2006. – Vol. 28, N 1. – P. 30-34.

6. Constitutional and occupational risk factors associated with bladder cancer / J. Ferris, J. Garcia, O. Berbel [et al.] // *Actas. Urol. Esp.* – 2013. – Vol. 37, N 8. – P. 513-522.

7. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000-2009) / I. Linhares, T. Raposo, A. Rodrigues [et al.] // *BMC Infectious Diseases.* – 2013. – Vol. 13. – P. 19-33.

8. Hatakka K. Probiotics in intestinal and non-intestinal infectious diseases--clinical evidence / K. Hatakka, M. Saxelin // *Curr. Pharm. Des.* – 2008. – Vol. 14, N 14. – P. 1351-1367.

9. Ingersoll M.A. From infection to immunotherapy: host immune responses to bacteria at the bladder mucosa / M.A. Ingersoll, M.L. Albert // *Mucosal immunology.* – 2013. – Vol. 6, N 6. – P. 1041-1053.

10. Pallett A. Complicated urinary tract infections: practical solutions for the treatment of multiresistant Gram-negative bacteria / A. Pallett, K. Hand // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2010. – Vol. 65, N 3. – P. 25-33.

11. Probiotics in the management of inflammatory bowel disease: a systematic review of intervention studies in adult patients / D. Jonkers, J. Penders, A. Masclee [et al.] // *Drugs.* – 2012. – Vol. 72, N 6. – P. 803-823.

12. Reid G. Probiotic Lactobacilli for urogenital health in women / G. Reid // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 42, N 3. – P. 234-236.

13. Squamous cell lesions of the urinary bladder / S. Rausch, N. Gaisa, R. Youssef [et al.] // *Urologie A.* – 2014. – Vol. 53, N 3. – P. 70-74.

14. The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review/ G. Schmiemann, E. Kniehl, K. Gebhardt [et al.] // *Deutsches. Arzteblatt. International.* -2010. – Vol. 107, N 21. – P. 361-367.

15. Urinary bladder carcinogenesis induced by chronic exposure to persistent low-dose ionizing radiation after Chernobyl accident / A. Romanenko, A. Kakehashi, K. Morimura [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2009. – Vol. 30, N 11. – P. 1821-1831.

16. Vaginal Lactobacillus isolates inhibit uropathogenic Escherichia coli / F. Atassi, D. Brassart, P. Grob [et al.] // *FEMS. Microbiol. Lett.* – 2006. – Vol. 257, N 1. – P. 132-138.

REFERENCES

1. Borovikov V. [STATISTICA: the art of computer data analysis for professionals]. 2nd ed. St.Petersburg: Piter; 2003. Russian.

2. Molchanov RM, Korolenko AC. [Influence of bacterial factor on the development of bladder cancer in experiment on animals]. *Urologia.* 2006(4):35-7. Ukrainian.

3. Ryzhenko SA, Kremenchutsky GM, Bredikhi-na MO. [Investigation of the effect of probiotic strain A. viridans 167 on immortalized cell cultures]. *An Inst Mechnikova.* 2007(1):19-22. Ukrainian.

4. Kremenchutsky GM, Ryzhenko SA, Valchuk SI. [The role of microecology of human organism and principles of its correction]. Dnepropetrovsk: Porogi; 2003. Russian.

5. Uehara S, Monden K, Nomoto K, Seno Y, Kariyama R, Kumon H. A pilot study evaluating the safety and effectiveness of Lactobacillus vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. *Int J Antimicrob Agents.* 2006;28 Suppl 1:S30-4.

6. Ferris J, Garcia J, Berbel O, Ortega JA. Constitutional and occupational risk factors associated with bladder cancer. *Actas Urol Esp.* 2013;37(8):513-22.

7. Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, Almeida A. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000-2009). *BMC infectious diseases.* 2013;13:19-33.

8. Hatakka K, Saxelin M. Probiotics in intestinal and non-intestinal infectious diseases--clinical evidence. *Curr Pharm Des.* 2008;14(14):1351-67.

9. Ingersoll MA, Albert ML. From infection to immunotherapy: host immune responses to bacteria at the bladder mucosa. *Mucosal immunology.* 2013;6(6):1041-53.

10. Pallett A, Hand K. Complicated urinary tract infections: practical solutions for the treatment of multiresistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65 Suppl 3:25-33.

11. Jonkers D, Penders J, Masclee A, Pierik M. Probiotics in the management of inflammatory bowel disease: a systematic review of intervention studies in adult patients. *Drugs.* 2012;72(6):803-23.

12. Reid G. Probiotic Lactobacilli for urogenital health in women. *J Clin Gastroenterol.* 2008;42 Suppl 3 Pt 2:S234-6.

13. Rausch S, Gaisa N, Youssef RF, Lotan Y, Stenzl A, Kalble T. [Squamous cell lesions of the urinary bladder]. *Urologie A.* 2014;53(3):368, 70-4.

14. Schmiemann G, Kniehl E, Gebhardt K, Matejczyk MM, Hummers-Pradier E. The diagnosis of urinary tract infection: a systematic review. *Deutsches Arzteblatt international.* 2010;107(21):361-7.

15. Romanenko A, Kakehashi A, Morimura K, Wanibuchi H, Wei M, Vozianov A, et al. Urinary bladder carcinogenesis induced by chronic exposure to persistent low-dose ionizing radiation after Chernobyl accident. *Carcinogenesis.* 2009;30(11):1821-31.

16. Atassi F, Brassart D, Grob P, Graf F, Servin AL. Vaginal Lactobacillus isolates inhibit uropathogenic Escherichia coli. *FEMS Microbiol Lett.* 2006;257(1):132-8.