

Наука и практика

УДК 616-093/-098

Л.Г. Боронина, Е.В. Саматова, М.П. Кукушкина, С.М. Блинова,
С.С. Устюгова, С.А. Панова, Т.И. Лахно

ПРИМЕНЕНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БАКТЕРИУРИИ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

*Уральский государственный медицинский университет
Областная детская клиническая больница № 1
г. Екатеринбург, Российская Федерация*

Аннотация. Протестировано 317 образцов мочи от детей в возрасте от года до 16 лет с различной патологией при применении анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия), использующего технологию лазерного светорассеивания. Через три часа после посева 281 проба показала отрицательный результат (88,6%), 36 образцов — положительный (11,4%), из них 19 образцов коррелировали с результатами традиционного культурального метода (посева на кровяной агар по методу Айзенберга). Для диагностики инфекций мочевыводящих путей определение бактериурии в более короткие сроки (3 часа) является принципиально важным, особенно при получении материала во время оперативных вмешательств и на амбулаторном приеме.

Ключевые слова: бактериурия, инфекции мочевыводящих путей, дети.

L.G. Boronina, E.V. Samatova, M.P. Kukushkina, S.M. Blinova,
S.S. Ustyugova, S.A. Panova, T.I. Lakhno

APPLICATION OF INNOVATIVE METHODS FOR BACTERIURIA DIAGNOSTICS OF URINARY TRACT INFECTIONS

*Urals State Medical University
Regional Children's Clinical Hospital N 1
Yekaterinburg, Russian Federation*

Abstract. 317 urine samples were tested by the analyzer ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Italy), using a laser light scattering technology. Urine samples were obtained from children aged from one to 16 years with different pathologies. 281 sample showed a negative result (88.6%) three hours after inoculation, 36 samples—positive (11.4%), of which 19 samples were correlated with the results of the traditional culture method (inoculation on blood agar for Eisenberg method). Bacteriuria definition it is crucial for the diagnostics of urinary tract infections in a short period of time (3 hours), especially for material obtained during surgical procedures and outpatients.

Keywords: bacteriuria, urinary tract infections, children.

Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМВП) относятся к числу широко распространенных заболеваний, встречающихся как в ам-

булаторной практике, так и в стационаре. Распространенность ИМВП у детей в РФ в среднем — 18—22 на 1000 детской популяции. В зависимости от региона частота ИМВП

колеблется от 5,6 до 27,5%. Проблема ИМВП становится актуальной уже с первых дней жизни ребенка: среди доношенных новорожденных частота ИМВП достигает 1%, недоношенных — 4—25% [1; 5].

В 70—95% случаев неосложненные и осложненные ИМВП вызываются одним микроорганизмом, преимущественно из семейства *Enterobacteriaceae*. Основным возбудителем чаще всего является *Escherichia coli* (80—90%), реже — *Staphylococcus saprophyticus* (3—5%), *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.* и др. [1; 2; 4; 5; 6]. Возбудители ИМВП подвергаются «селективному давлению» антибиотиков и антисептиков, таким образом, ИМВП, особенно нозокомиальные, составляют, по-видимому, самый большой резервуар антибиотикорезистентных микроорганизмов в лечебных учреждениях [5].

Для культурального исследования мочи применяют ручной посев на чашки Петри, автоматические посевные станции, дип-слайды с последующей идентификацией и определением антибиотикограммы у этиологически значимого микроорганизма с помощью ручных классических методов или с использованием автоматических и полуавтоматических анализаторов. Таким образом, отрицательные результаты бактериологического исследования мочи выдаются не ранее чем через сутки, а положительные — минимум через 48 часов. Это не способствует своевременному назначению лечашим врачом этиотропной антибиотикотерапии.

Цель работы — оценить возможность применения ускоренных методов диагностики инфекций мочевыводящих путей у детей путем сравнения методики, основанной на технологии лазерного светорассеивания (анализатор ALIFAX HB&L LIGHT, Alifax, Италия) и классического культурального метода (посева).

Материалы и методы. Исследовано 317 образцов мочи, собранных классическим способом (средняя порция мочи), при использовании катетера и во время операции у детей в возрасте от года до 16 лет из урологического и нефрологического отделений ГБУЗ СО «ОДКБ № 1» с диагнозами: гидронефроз, уретрогидронефроз, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, хронический цистит, острый пиелонефрит, ИМВП, киста почки, нейрогенный мочевого пузыря.

Анализатор ALIFAX HB&L LIGHT позволяет автоматически назначать степень бактериурии в соответствии с клиническими показаниями. Согласно приказу № 535 от 22 апреля 1985 г. степень бактериурии $\geq 10^5$ КОЕ/мл является значимой при различных формах ИМВП [3]. С учетом рекомендаций по ведению больных с инфекциями почек, мочевых путей и мужских половых органов у больных, получающих антибактериальную терапию, при плохом оттоке мочи, при низком удельном весе и pH ниже 5 может наблюдаться низкая степень бактериурии [5]. Поэтому на анализаторе предварительно установили следующие пороговые значения: 103 КОЕ/мл — при ИМВП у детей с аномалиями мочевыводящих путей, 104 КОЕ/мл — при ИМВП у детей без признаков аномалий мочевыводящих путей.

Образцы, которые демонстрировали индикацию роста в ходе исследования на анализаторе, высевали на кровяной агар по методу Айзенберга [7]. Видовую идентификацию бактерий в положительных образцах проводили классическими бактериологическими методиками, а также с использованием тест-систем для автоматического бактериологического анализатора MicroScan WalkAway 96 (Siemens, Германия) и полуавтоматических анализаторов: ATB Expression (bioMerieux, Франция) и SENSITITRE (TREK Diagnostic Systems, США).

Параллельно на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT в пробах мочи исследовали остаточную антимикробную активность (ОАА). ОАА-исследование позволяет зафиксировать наличие в образце ингибиторов бактериального роста (антибиотики или другие вещества, обладающие антибактериальной активностью). Кроме того, исследование ОАА позволяет достоверно и быстро определить, в достаточной ли концентрации назначенный антибиотик попадает в очаг инфекции, и тем самым выяснить адекватность применяемой терапии.

В основе анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) лежит запатентованная технология, созданная на методике лазерного светорассеяния, позволяющая отслеживать процесс роста бактерий от момента внесения пробы в специальную жидкую питательную среду с одновременным отображением кинетических кривых роста и исходной обсемененности пробы в КОЕ/мл. Вследствие особенностей методики бактериальный рост, обнаруживаемый прибором, обусловлен исключительно живыми делящимися бактериями [8]. Применение опи-

сываемого метода позволяет контролировать появление контаминирующих микроорганизмов из других эпителиев, например с кожи, и уже через 3 часа выдать заключение.

Результаты и обсуждение. Через три часа после начала исследования на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT отрицательный результат, свидетельствующий об отсутствии роста бактериальной культуры, был получен для 281 пробы (88,6%), положительный результат исследования — для 36 образцов (11,4%). Таким образом, более чем в 2/3 случаев данные об отсутствии бактериурии лечащий врач получает уже через 3—4 часа вместе с результатами общего анализа мочи.

Положительные образцы высевали на кровяной агар по методу Айзенберга (табл.).

В 19 случаях результаты, полученные на ALIFAX HB&L LIGHT и с помощью традиционного культурального метода, коррелировали: в 12 образцах (пробы № 1—12) обнаружена клинически значимая изолированная культура (чаще *E. coli*, *K. pneumoniae*), в титре > 10⁴ КОЕ/мл, а в 7 — полимикробная биота (два микроорганизма, пробы № 13—19). Вторые микроорганизмы, такие как *Lactobacillus spp.* и *S. epidermidis*, представители нормальной флоры слизистых оболочек и кожи, являются контаминантами.

Оставшиеся 17 образцов показали следующий результат при высевании на кровяной агар: в трех образцах (№ 23—25) рост отсутствовал; в трех образцах (№ 20—22) интенсивность роста была ниже порогового значения

Таблица

Результаты культурального исследования образцов, для которых выявлен рост бактериальной культуры на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT

№ пробы	Результаты ALIFAX HB&L LIGHT (КОЕ/мл)	Посев на кровяной агар по методу Айзенберга	
		Обнаруженные микроорганизмы	КОЕ/мл
1—12	от 700 000 до 50 000 000	монокультуры: <i>E. coli</i> (n=4); <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n*=5); <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=2); <i>Acinetobacter baumannii</i> (n=1)	от 10 ⁵ до 10 ⁷
13—19	от 20 000 до 20 000 000	ассоциации: <i>E. coli</i> + <i>Enterococcus spp.</i> (n=1); <i>E. coli</i> + <i>Enterococcus spp.</i> (n=1); <i>E. coli</i> + <i>Enterococcus spp.</i> (n=1); <i>E. coli</i> + <i>Lactobacillus spp.</i> (n=1); <i>Enterococcus faecalis</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=1); <i>Enterococcus faecalis</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i> (n=1); <i>A. baumannii</i> + <i>Acinetobacter lwoffii</i> (n=1)	10 ⁷ + 10 ⁷ 10 ⁷ + 10 ⁶ 10 ⁶ + 10 ⁶ 10 ⁵ + 10 ⁵ 10 ⁴ + 10 ³ 10 ⁴ + 10 ⁴ 10 ⁴ + 10 ⁴
20—22	от 7 000 до 70 000	монокультура: <i>E. coli</i> (n=2); <i>Enterococcus spp.</i> (n=1)	все < 10 ³
23—25	от 50 000 до 700 000	роста нет	-
26—28	от 3 000 до 15 000 000	ассоциации: <i>E. faecalis</i> + <i>Staphylococcus haemolyticus</i> + <i>Corynebacterium spp.</i> (n=1); <i>Enterococcus spp.</i> + <i>E. coli</i> + <i>S. epidermidis</i> (n=1); <i>E. coli</i> + <i>E. faecalis</i> + <i>S. haemolyticus</i> (n=1)	10 ⁵ + 10 ⁶ + 10 ⁶ 10 ⁶ + 10 ³ + 10 ³ 10 ⁵ + 10 ² + 10 ²
29—35	от 3 000 до 4 000 000	≥ 3-культур, контаминация	-
36	1 500 000	<i>Corynebacterium spp.</i>	10 ³

* n — количество проб.

при посеве; в 10 случаях высевалось более трех культур, т.е. присутствовала контаминация (из них в трех случаях — пробы № 26—28 — совместно с уропатогенами в диагностическом титре) или монокультура контаминанта (№ 36 — *Corynebacterium spp.*, n=1), титр которой не совпадал с титром анализатора.

Для обеспечения большей клинической достоверности и исключения ложноотрицательных результатов параллельно все пробы мочи исследовались на определение ОАА. Для определения ОАА использовался отдельный флакон с жидкой питательной средой. В флакон засеивался штамм *S. Epidermidis*, чувствительный к антимикробным препаратам (лиофилизированная культура поставляется производителем анализатора, запатентовано). Есть рост *S. epidermidis* — проба мочи не содержит антимикробные препараты. Нет роста *S. epidermidis* — проба мочи содержит антимикробные препараты.

43,1% образцов, в которых отсутствовал рост бактериальной культуры, дали положительный результат при определении ОАА, что говорит о приеме пациентами антимикробных препаратов на догоспитальном этапе или непосредственно в стационаре и свидетельствует об их эффективности.

Отсутствие ложноотрицательных результатов анализа проб с низким титром бактерий и быстрое их получение за счет кинетических измерений растущей культуры методом лазер-

ного светорассеяния имеет преимущества перед традиционными методами, прежде всего в скорости определения бактериурии. Параллельное исследование проб мочи на остаточную антимикробную активность позволяет объективно выяснить, применялись и/или применяются антимикробные препараты, косвенно судить об эффективности применяемой антибиотикотерапии.

Выводы

Лишь у 45,5% пациентов не было «истинной» бактериурии. В 43,1% случаев рост бактериальной культуры отсутствовал на фоне приема пациентами антимикробных препаратов. При использовании анализатора ALIFAX HB&L LIGHT лечащий врач получит эти данные уже через 3—4 часа вместе с результатами общего анализа мочи, что позволит оптимизировать диагностику инфекций мочевыводящих путей во время оперативных вмешательств и на амбулаторном приеме. А при применении классического культурального метода (посева) отрицательные результаты бактериологического исследования мочи без возможности зафиксировать наличие в образце ингибиторов бактериального роста лечащий врач получит минимум через 24 часа.

Основными возбудителями инфекций мочевыводящих путей, как в монокультуре, так и в ассоциации, явились представители семейства *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*) и рода *Enterococcus spp.* — 58,3%.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Коровина, Н.А. Инфекция мочевой системы у детей: современные подходы к диагностике и лечению / Н.А. Коровина, И.Н. Захарова, Э.Б. Мумладзе, А.Н. Горяйнова // Русский медицинский журнал. — 2007. — № 2. — С. 1533—1542.
2. Методики клинических лабораторных исследований. Клиническая микробиология / под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Лабора, 2009. — 880 с.
3. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях ЛПУ: приказ № 535 от 22 апреля 1985 г. — М., 1985. — 126 с.
4. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. — Смоленск: МАКМАХ, 2007. — 464 с.
5. Рекомендации по ведению больных с инфекциями почек, мочевых путей и мужских половых органов (European Association of Urology, 2008) [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/index.php?page=17> (дата обращения: 05.05.2016).
6. Руководство по медицинской микробиологии. Оппортунистические инфекции: клинико-эпидемиологические аспекты / под ред. А.С. Лабинской, Е.Г. Волиной, Е.П. Ковалевой. — М.: Издательство БИНОМ, 2014. — 880 с.
7. Essential procedures for clinical microbiology / editor in chief H. D. Isenberg. — Washington, D.C.: ASM PRESS, 1998. — 842 p.
8. Ballabio, C. Evaluation of an automated method for urine culture screening / C. Ballabio, N. Venturi, M. R. Sala, P. Mocarelli, P. Brambilla // Microbiologia Medica. — 2010. — Vol. 25. — N. 3. — P. 178—180.