

<sup>1</sup>А. А. Гаврусев, <sup>2</sup>Е. П. Михаленко, <sup>2</sup>И. Н. Андреева, <sup>2</sup>А. В. Кильчевский

<sup>1</sup>Учреждение образования  
«Белорусский государственный медицинский университет»,  
г. Минск, Республика Беларусь,  
<sup>2</sup>Государственное научное учреждение  
«Институт генетики и цитологии НАН РБ»,  
г. Минск, Республика Беларусь

## МИКРОБИОМ МОЧИ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ ПРИ ОБСТРУКТИВНОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ

### **Введение**

Актуальность инфекций мочевыводящих путей (ИМП) связана с распространенностью, частыми рецидивами заболеваний и недостаточной эффективностью терапии. Обструктивный пиелонефрит это осложненная ИМП, развивающаяся вследствие нарушения оттока мочи из верхних мочевых путей. До настоящего времени вопросы этиологии пиелонефрита до конца не решены. Принято считать, что наиболее частыми возбудителями ИМП являются *E. coli*. (50–85 %) и другие энтеробактерии (*Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*). Однако по результатам общепринятого стандартного бактериологического посева мочи в 35–69 % случаев пиелонефрита роста бактериальной микрофлоры не получают [1, 2]. Наши предыдущие исследования показали, что положительные результаты бактериологического посева были только в 40,6 % случаев пиелонефрита. Современные исследования микробиома мочи или уробиома позволили обнаружить многообразие различных микроорганизмов, населяющих мочевые пути как в норме, так и при патологии, одной из которых является острый пиелонефрит.

### **Цель**

Целью исследования являлось изучение микробиома мочи при обструктивном пиелонефрите, в том числе в случаях с отрицательным результатом стандартного бактериологического посева.

### **Материалы и методы исследования**

В период с 08.2021 по 01.2022 г. проведено ретроспективное исследование 44 пациентов (32 женщины, 12 мужчин), госпитализированных в урологическое отделение 4 ГКБ им. Н. Е. Савченко по поводу обструктивного пиелонефрита. Средний возраст мужчин составлял  $62,4 \pm 16,2$ , женщин –  $51,6 \pm 18,7$ . Всем пациентам проведено наружное стентирование мочеточника с целью устранения уростаза. Материалом для исследования являлась средняя порция мочи (34 случая) или моча, полученная из мочеточникового катетера (10 случаев). Бактериологическое исследование мочи проводили в лаборатории городского центра эпидемиологии и микробиологии. Стандартный бактериологический посев проводили на твердую питательную среду – 5 % кровяной агар и определяли степень бактериурии и чувствительность бактерий к антибактериальным препаратам. Проведено пилотное исследование микробиома мочи верхних мочевых путей, полученной из мочеточникового катетера у двух пациентов. В одном случае (№ 1) обструктивный пиелонефрит развился на фоне камня мочеточника. Случай № 2 – гестационный пиелонефрит. В обоих случаях проведена катетеризация мочеточника с целью ликвидации уростаза.

Исследования микробиома. Для выделения микробной ДНК из образцов мочи использовали набор «АртРНК экстракт» по протоколу производителя. После выделения тотальной ДНК и подготовки библиотек для секвенирования было выполнено секвенирование переменных участков V3-V4 гена 16S рРНК с использованием набора MiSeq Reagent Kit v3 (600 циклов) и прибора MiSeq Illumina согласно рекомендациям производителя. На первом этапе для анализа полученных данных и их визуализации использовали программу 16S Metagenomics (Version 1.1.0), предоставляемую фирмой Illumina в составе пакета BaseSpace (<https://basespace.illumina.com>). Оценку качества прочтений и тримминг некачественных оснований проводили в программах FastQC и Trimmomatic соответственно. Анализ регионов V3-V4 проводили в программе qiime2.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

По результатам бактериологического посева положительный рост получен в 25 (56,8 %) случаях. Структура бактериальной микрофлоры: *E.coli* – 9 случаев (20,5 %), *Klebsiella pneumoniae* – 5 (11,4 %), *Enterococcus faecalis* – 3 (6,8%), *Proteus mirabilis* и *Enterococcus faecium* – по 2 случая (4,5 % каждый), *Ps. aeruginosa*, *Staph. epidermidis*, *Staph. haemolyticus* и *Streptococcus agalactiae* – по 1 случаю (2,3 % каждый). Из 10 проб мочи, полученной из мочеточникового катетера, в 5 случаях бактериальный рост отсутствовал (в 4 случаях выделена *E.coli*, в 1 случае – *Klebsiella pneumoniae*).

Пилотное исследование микробиома мочи проведено двум пациентам с отрицательными результатами стандартного бактериологического посева. В обоих случаях в моче из верхних мочевых путей, полученной по катетеру, микробиом был представлен ассоциациями из анаэробно-аэробной микрофлоры. В случае №1 выявлено 7 родов/видов бактерий. Относительная численность родов бактерий следующая: *Prevotella* – 21,36%, *Escherichia* – 8,35 %, *Bacteroides* – 6,67 %, *Klebsiella* – 5,37 %, *Faecalibacterium* – 4,77 %, *Oscillospira* – 3,71 %, *Ureaplasma* – 3,2 %, неклассифицированных родов – 21,12 %. Структура видов микроорганизмов: *Prevotella copri* – 13,01 %, *Escherichia albertii* – 7,42 %, *Prevotella stercorea* – 5,85 %, *Ureaplasma parvum* – 2,85 %, *Klebsiella granulomatis* – 1,99 %, *Serratia entomophila* – 1,89 %, неклассифицированных видов – 41,88 %.

Исследования случая № 2 выявили наличие 7 родов/видов бактерий. Относительная численность родов: *Pseudomonas* – 11,19 %, *Bacteroides* – 5,16 %, *Escherichia* – 3,06 %, *Prevotella* – 2,42 %, *Blautia* – 2,36 %, *Delftia* – 2,36 %, *Bradyrhizobium* – 2,32 %, неклассифицированных родов – 28,12 %. Видовой состав бактерий: *Pseudomonas moraviensis* – 4,47 %, *Pseudomonas azotoformans* – 3,98 %, *Escherichia albertii* – 2,7 %, *Delftia tsuruhatensis* – 1,57 %, *Pyramidobacter piscicola* – 1,4 %, *Bradyrhizobium pachyrhizi* – 1,1 %, *Akkermansia muciniphila* – 0,96 %, неклассифицированных видов – 51,3 %.

Обращает на себя внимание разнообразие анаэробной микрофлоры в образцах мочи: *Prevotella*, *Bacteroides*, *Pyramidobacter*, *Akkermansia*. Выявлена в моче из верхних мочевых путей и *Ureaplasma parvum*, которая считается возбудителем уретрита. Большинство из этих бактерий являются условно-патогенными возбудителями, которые могут вызывать воспалительный процесс у иммунокомпрометированных пациентов.

Таким образом, уробиом при пиелонефрите представлен различными микроорганизмами, в том числе некультивируемыми. Учитывая недостатки стандартного бактериологического посева, современные исследователи считают перспективным направлением в исследовании микробиома комбинацию культуральных и некультуральных методов, что может дать полную характеристику микробных сообществ в мочевыводящих путях, что будет востребовано в клинической практике [3].

### ***Выводы***

При применении стандартного бактериологического посева в 43,2% случаев обструктивного пиелонефрита рост бактериальной микрофлоры не получен. Исследование микробиома мочи из верхних мочевых путей показало разнообразие анаэробно-аэробной микрофлоры, которая может участвовать в воспалительном процессе при пиелонефрите. Необходимо дальнейшее проведение исследований уробиома для лучшего понимания этиологии урологических заболеваний и разработки новых методов лечения.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Acute pyelonephritis in adults: a case series of 223 patients / C. Rollino [et al.] // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2012. – Vol. 27 (9). – P. 3488–3493.
2. Lee, J. H. Discrimination of culture negative pyelonephritis in children with suspected febrile urinary tract infection and negative urine culture results / J. H. Lee // Journal of Microbiology, Immunology and Infection. – 2019. – Vol. 52 (4). – P. 598–603.
3. Perez-Carrasco, V. Urinary Microbiome: Yin and Yang of the Urinary Tract / V. Perez-Carrasco [et al.] // Front Cell Infect Microbiol. – 2021. – Vol. 11. – 617002.

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ**  
**«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

# **«VII ПОЛЕССКИЙ УРОЛОГИЧЕСКИЙ ФОРУМ»**

**Сборник материалов**  
**(г. Гомель, 8–9 июня 2023 года)**

**Гомель**  
**ГомГМУ**  
**2023**