

УДК 616.61-002.17:616.62-008.87

Алкаралех А.Х., Гаврусев А.А., Костюк С.А.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

СПЕКТР МИКРОФЛОРЫ МОЧИ У ПАЦИЕНТОВ С ОБСТРУКЦИЕЙ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ

Введение. Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются одной из наиболее распространенных патологий, уступая по частоте только инфекциям дыхательных путей. Особое клиническое значение имеют ИМП у пациентов с обструкцией верхних мочевых путей, так как нарушение оттока мочи создает условия для активного размножения микроорганизмов, повышая риск тяжелых осложнений, таких как пиелонефрит, уросепсис и хроническая почечная недостаточность [1]. Обструкция, вызванная мочекаменной болезнью, опухолями, стриктурами или врожденными аномалиями, способствует застою мочи, изменению ее pH и снижению местных защитных механизмов, что влияет на состав микробиоты мочи [2].

Современные исследования показывают, что моча даже здоровых людей не является стерильной и содержит разнообразную микробиоту, включающую комменсальные и условно-патогенные микроорганизмы [3]. У пациентов с обструкцией верхних мочевых путей спектр микрофлоры мочи становится более сложным и включает грамположительные и грамотрицательные бактерии, анаэробы, грибы рода *Candida*, а также вирусы [4]. Особое внимание уделяется микст-инфекциям, которые затрудняют диагностику и выбор адекватной терапии [5]. Кроме того, микробиота мочи может быть связана с микробными сообществами кишечника и влагалища, что подчеркивает необходимость комплексного подхода к изучению ИМП [4].

Цель. Определение микробных особенностей мочи при обструктивной уропатии, вызванной мочевыми камнями или опухолями мочевыводящих путей и сравнение с микрофлорой мочи у здоровых лиц в контрольной группе.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе кафедры урологии и нефрологии с курсом повышения квалификации и переподготовки и научно-исследовательской лаборатории Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины УО «Белорусского государственного медицинского университета». Оно было одобрено университетским комитетом по этике. Устное и письменное информированное согласие было предоставлено всеми пациентами до включения в это исследование.

Всего в исследование были включены 40 пациентов, 27 женщин и 13 мужчин. Основную группу составили 20 человек с острым обструктивным пиелонефритом на фоне мочекаменной болезни, 20 человек с острым обструктивным пиелонефритом на фоне опухолей мочевыводящих путей и 30 человек практически здоровых лиц вошли в контрольную группу.

Материалом для исследования явились образцы мочи. Методы, которые использовались для получения образцов мочи для исследования микробного состава

мочевыводящих путей, включают получение мочи из среднего отдела мочевыводящих путей, катетеризацию мочевого пузыря или надлобковую пункцию. Чистая средняя порция мочи всех пациентов была получена в стерильном устройстве для сбора мочи. 50 миллилитров мочи были перенесены в Vacuette (greiner-bioone®) после десятиминутного центрифугирования в 4000 оборотов в минуту. Супернатант отбрасывали, а осадок растворяли в 1000 мкл TriFast™ (peqlab®) и либо заморожен при температуре – 20 °С. Выделение ДНК проводилось методом фенол-хлороформной экстракции при комнатной температуре, добавив 200 мкл хлороформа и центрифугированием при 12000 g в течение 5 мин. Водная фаза была исключена из-за преципитации РНК. На дно было добавлено сто микролитров этанола слоем и после многократного переворачивания трубки ДНК осаждали центрифугированием при 2000 g в течение 15 мин. при 4 °С. Затем осадок ДНК промывали 0,1 моль цитрата натрия и 10% этанолом путем повторной инкубации при комнатной температуре в течение 30 мин. После двух стирок в 75% этаноле осадок ДНК сушили на воздухе и повторно растворяли в 8 ммоль NaOH. Полученный солиобилизованный ДНК нейтрализовали буферным раствором NEPEP. ПЦР-амплификация проводилась с использованием зарегистрированных в Республике Беларусь диагностических тест-систем для определения ДНК условно-патогенных микроорганизмов.

Также проводились бактериологические исследования, включающие посев на условно-патогенную микрофлору с определением их диагностически значимой концентрации.

Статистический анализ. Была определена приверженность распределению Гаусса с помощью теста Колмогорова–Смирнова. Нормально распределенные данные описывались как средние значения \pm стандартные отклонения. В случае асимметричного распределения данные были описаны как медианы (25-й и 75-й процентиля). Качественные переменные описывались с помощью чисел и процентов, а сравнивали с использованием точного критерия Фишера. Двустороннее р-значение значение 0,05 считалось статистически значимым. Данные были проанализировано с помощью SPSS®Statistics (версия 21 для Mac).

Результаты и обсуждение. Поскольку наши предыдущие исследования микробного состава мочи не смогли подтвердить наличие бактерий в 100% мочи проб, первым шагом была проверка существования бактерий в моче в нашей исследуемой основной группе методом ПЦР в режиме реального времени. Исследование показало, что наиболее часто у больных с острым обструктивным пиелонефритом методом ПЦР в режиме реального времени определялась *Esherichia coli* (40,1 \pm 3,9%), *Staphylococcus spp.* (15,5 \pm 1,7%), *Klebsiella pneumonia* (5,8 \pm 1,1%), *Proteus spp.* (4,6 \pm 1,0%), *Herpes simplex virus 1,2* типа (10,1 \pm 1,3%), *Cytomegalovirus* (10,5 \pm 1,5%), *Ureaplasma urealyticum* и *Urealasma parvum* (27,3 \pm 2,1%). При остром пиелонефрите чаще всего выявлялась микст-флора (75,3% исследований). Отмечено преобладание грамотрицательной флоры, составившей 46,4% от всех положительных результатов мочи при острой обструктивной задержке мочи.

Установлена высокая частота отрицательных результатов бактериологических посева при остром обструктивном пиелонефрите (56,6%), а также распространенность отрицательных посевов при наличии бактериурии, выявленной микроскопически в осадке мочи (36,6%). У мужчин одинаково часто обнаруживались *Esherichia coli* (18,6±0,7%), *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermalis* (18,6±0,7%) *Proteus* spp. (13,6±0,6%), *Enterococcus* (11,9±0,5%), *Ureaplasma urealyticum* и *Urealasma parvum* (12,3±1,1%) и микробные ассоциации (38,6±0,7%). У женщин *Esherichia coli* высевалась чаще других – в 31,8±0,5%, *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermalis* (14,4±0,3%), *Proteus* spp. (14,49±0,2%), *Pseudomonas* (8,8±0,2%) и *Enterococcus* (2,86±0,2%), *Enterobacter* (3,7±0,2%), *Klebsiella pneumoniae* (9,8±0,3%), *Ureaplasma urealyticum* и *Urealasma parvum* (33,3±2,1%) и микробные ассоциации (50,2±0,6%).

В группе практически здоровых лиц лишь у одной пациентки определена в моче *Ureaplasma urealyticum*.

Выводы. Результаты нашего показывают, что в развитии острого обструкционного пиелонефрита ведущую роль играют представители семейства *Enterobacteriaceae*, в частности – *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Staphylococcus aureus*, а также вирусы семейства *Herpesviridae*, *Ureaplasma urealyticum* и *Ureaplasma parvum*. Проведенное исследование позволяет сделать вывод о существенном изменении микробного пейзажа при остром обструктивном пиелонефрите в последние годы и об увеличении при этом доли условных сапрофитов, а также их ассоциаций, что может свидетельствовать об изменении вирулентности последних. Их высокая устойчивость к антибиотикам заставляет искать новые подходы в лечении пиелонефрита.

Литература

1. Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M., Hultgren S.J. Urinary tract infections: Epidemiology, mechanisms of infection and treatment options // *Nature Reviews Microbiology*. 2015. Vol. 13, № 5. P. 269–284. DOI: 10.1038/nrmicro3432.
2. Nicolle L.E. Urinary tract infections in special populations: Focus on children and adolescents // *Clinical Microbiology Reviews*. 2016. Vol. 29, № 3. P. 583–600. DOI: 10.1128/CMR.00089-15.
3. Набока Ю.Л., Коган М.И., Гудима И.А. и др. Нестерильность мочи здорового человека – новая парадигма в медицине // *Урология*. 2020. № 3. С. 45–50. URL: <https://urologyjournal.ru/article/novaya-paradigma-nesterilnosti-mochi>.
4. Набока Ю.Л., Коган М.И., Гудима И.А. и др. Взаимосвязь микробиоты мочи, влагалища и кишечника при инфекциях верхних мочевых путей // *Урологические ведомости*. 2021. Т. 11, № 2. С. 123–130. URL: <https://uroweb.ru/article/vzaimosvyaz-mikrobioty-mochi-vlagalishcha-i-kishechnika>.