

**Динамика микробиоты мочи пациентов с острым обструктивным пиелонефритом при
длительном наблюдении.**

Набока Ю. Л.¹, Митусова Е. В.², Гудима И. А.¹, Моргун П. П.³, Коган М. И.²

¹Кафедра микробиологии и вирусологии №1 и ²Кафедра урологии и репродуктивного
здоровья человека с курсом детской урологии-андрологии ГБОУ ВПО РостГМУ
Минздрава России, г. Ростова-на-Дону.

³Муниципальное бюджетное учреждение здравоохранения Больница скорой медицинской
помощи г.Ростова-на-Дону.

Аннотация. Проведен анализ бактериологического исследования мочи 72 пациентов с острым обструктивным пиелонефритом в течение 6 месяцев. При госпитализации в стационар проводили бактериологическое исследование мочи до и после ликвидации обструкции верхних мочевых путей. В последующие 5 суток больным проводили эмпирическую антибактериальную терапию до получения результатов микробиологического исследования мочи, после чего все больные были разделены на две группы. 1 группу пациентов составили 38 человек, которым проводили антибактериальную терапию с учетом антибиотикочувствительности общедоказанных патогенов (*E.coli*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterococcus sp.* и др.), во 2 группу пациентов вошли 34 человека, получавших антибактериальное лечение с учетом антибиотикочувствительности всех выделенных из мочи микроорганизмов. После завершения антибактериальной терапии всем пациентам проводили клинико-лабораторный и бактериологический мониторинг мочи через 1,3 и 6 месяцев наблюдения.

Ключевые слова: острый обструктивный пиелонефрит; микробиота мочи.

**The dynamics of the microbiota of urine in patients with acute obstructive pyelonephritis in
periods of observation.**

Abstract. Analysis of urine culture in 72 patients with acute obstructive pyelonephritis within 6 months. When hospitalization was performed urine culture before and after the elimination of the upper urinary tract obstruction (VMP). Over the next 5 days the patients received empirical antibiotic therapy until the results of the microbiological examination of urine, after which all patients were divided into two groups. 1 group of patients consisted of 38 people who received antibiotic therapy based on antibiotic susceptibility obschedokazannyh pathogens (*E.coli*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterococcus sp.*, Etc.), The 2 group of patients included 34 men treated with antibacterial treatment based antibiotic susceptibility of microorganisms isolated from urine. After the completion of antibiotic therapy, all patients underwent clinical and laboratory and bacteriological monitoring of urine through the 1,3 and 6 months follow-up.

Keywords: acute obstructive pyelonephritis; urine microbiota.

Введение. Согласно данным официальной статистики РФ количество пациентов с заболеваниями мочеполовой системы за последние 5 лет увеличилось на 7,6% и составило в 2013 г. более 11,7 млн. человек. Среди них заболевания почек диагностированы более чем у 2,2 млн. [1, 2]. В структуре заболеваний почек преобладает острый пиелонефрит (ОП), частота случаев которого составляет 0,9-1,3 млн. ежегодно [3]. Известно, что на начальных этапах лечения ОП после ликвидации обструкции верхних мочевых путей (ВМП) проводится эмпирическая антибактериальная терапия [4, 5]. Однако конечный успех лечения, прежде всего, зависит от эффективности этиотропной антибактериальной терапии, основанной на результатах первичного и динамического бактериологического мониторинга мочи, проводимого неоднократно в ходе лечения и наблюдения [6, 7]. Как показывает опыт, эффективность современной этиотропной терапии ОП, к сожалению, остается низкой. В 10-30% случаев происходит рецидив заболевания или переход в хроническую форму [8]. Одной из причин низкой эффективности этиотропной терапии считают высокую резистентность микроорганизмов, в частности энтеробактерий, к современным антибактериальным препаратам. Однако, это ли единственная причина? Может быть, антибактериальную терапию надо проводить с учетом современных данных о микробиоме мочи. Новые знания по микрофлоре мочи в норме были получены в результате исследований, инициированных в США «Human microbiome Project» (2008-2012 г.г.) [<http://nihroadmap.nih.gov/hmp>, www/human-microbiome.org]. Так, в микробиоме мочи здоровых женщин выявлено 45 родов микроорганизмов. Было установлено доминирование в моче *Lactobacillus* sp., *Prevotella* sp., *Gardnerella* sp. и др. [9]. Исследователи сделали вывод, что состав мочи носит полимикробный и переменный характер: широкий бактериальный паттерн, включал как виды, вызывающие патологические состояния, так и те, которые являются частью здоровой микрофлоры мочи. С позиций полученных и получаемых данных по микробиому мочи в норме, с широким спектром присутствия в данном локусе различных микроорганизмов, этиологическая структура острого обструктивного пиелонефрита (ООП) остается недоизученной.

Цель исследования. Оценить микробный спектр мочи у больных с острым обструктивным пиелонефритом на протяжении 6 месяцев лечения и мониторинга и его влияние на клиническую эффективность лечения.

Материалы и методы. Обследованы 72 пациента с ООП, которые проходили лечение в урологическом отделении больницы скорой медицинской помощи г. Ростова-на-Дону (БСМП). Всем пациентам при госпитализации проводили бактериологическое исследование двух порций мочи: 1 – средняя порция мочи, полученная во время самостоятельного мочеиспускания, до дренирования ВМП. 2 порцию забирали у пациентов интраоперационно при катетеризации мочеоточника сразу после ликвидации обструкции. Степень бактериурии оп-

ределяли по методике Меншикова В.В. (2009), но с использованием расширенного набора питательных сред. Для факультативно-анаэробных бактерий применяли среды Эндо, Hi-Crome Candida Differential Agar, HiCrome Enterococci Agar, HiCrome Aureus Agar Base, желточно-солевой агар, кровяной агар, приготовленный на основе Mueller Hinton Agar с добавлением бараньих эритроцитов. Для выделения неклостридиальных анаэробных бактерий и использовали среды Блаурокка, Shaedler Agar и бульон, Bacteroides Bile Esculinum Agar. Для определения неклостридиально-анаэробных бактерий (НАБ) в жидких (бульон Shaedler) и полужидких средах (Блаурокка) проводили десятикратные разведения в тиогликолевом буфере с высевом на соответствующие питательные среды. Посевы аэробных бактерий инкубировали в термостате 1-2 суток, анаэробных – 3-7 суток (температура 37⁰С). Для создания анаэробных условий из микроанаэростата МИ-752 откачивали воздух вакуумным насосом и заполняли его газовой смесью (10% CO₂, 10% H₂, 80% N₂). Идентификацию выделенных бактерий проводили по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам с помощью энтеро-, стафило-, неферм-, анаэротестов (Lachema, Чехия).

В течение первых 5 суток всем больным проводили эмпирическую антибактериальную терапию (ципрофлоксацин или офлоксацин 500 мг в/в капельно 2 раза в сутки) до получения результатов первого бактериологического исследования мочи. После чего больные были разделены на 2 группы. Больным 1 группы (n=38) осуществляли этиотропную антибактериальную терапию с учетом антибиотикочувствительности основных (общедоказанных) патогенов (*E.coli*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Enterococcus sp.* и др.) в течение 10 суток. 2 группа (n=34) пациентов получала этиотропное лечение в течение 10 суток с учетом антибиотикочувствительности большинства (энтеробактерии, энтерококки, коагулазоотрицательные стафилококки, коринебактерии, НАБ) выделенных из мочи микроорганизмов. После завершения антибиотикотерапии всем пациентам проводили клинико-лабораторный и бактериологический мониторинг мочи через 1, 3 и 6 месяцев наблюдения.

Результаты. Во всех случаях в моче до дренирования ВМП регистрировали широкий спектр аэробно-анаэробных ассоциаций. В моче доминировали НАБ (94,4%), энтеробактерии (80,5%) и грампозитивная флора (63,8%). В семействе Enterobacteriaceae преобладали *E.coli* (52,7%) с уровнем бактериурии 10^{4,9} КОЕ/мл (Таблица 1).

Таблица 1 – Частота выявления и уровень бактериурии при ООП до и после дренирования верхних мочевых путей

Микроорганизм	При поступлении			
	до дренирования (n=72)		после дренирования (n=68)	
	1	2	1	2
Энтеробактерии:	80,5	4,7±0,3	80,8	3,8±0,4
E.coli	52,7	4,9±0,5	52,9	4,7±0,7
Klebsiella sp.	19,4	4,4±0,4	19,1	3,1±0,5*
Proteus sp.	6,9	4,6±0,3	7,3	4,4±0,3
Providencia sp.	1,3	5,0±0,1	1,4	3,0±0,1*
Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОб):				
Burkholderia ceracia	1,3	6,0±0,1	1,4	5,0±0,1*
Грампозитивные бактерии:	63,8	1,8±0,2	52,9	1,9±0,4
КОС	44,4	2,2±0,2	27,9*	2,4±0,4
Corynebacterium sp.	30,5	1,7±0,4	16,1*	1,6±0,6
Enterococcus sp.	30,5	2,1±0,1	19,1*	2,0±0,1
S.aureus	5,5	2,0±0,1	7,3	1,6±0,5
Micrococcus sp.	1,3	1,0±0,1	0	0
Bacillus sp.	1,3	2,0±0,1	0	0
НАБ:	94,4	2,4±0,3	89,7	2,0±0,1
Eubacterium sp.	50,0	3,1±0,5	39,7*	2,2±0,2
Peptococcus sp.	36,1	2,4±0,4	27,9*	2,5±0,5
Peptostreptococcus sp.	30,5	2,8±0,3	22,0	2,9±0,7
Propionibacterium sp.	29,1	2,2±0,2	17,6*	2,2±0,2
Bacteroides sp.	13,8	2,3±0,3	13,2	2,3±0,3
Megasphaera sp.	1,3	2,0±0,1	0	0
Fusobacterium sp.	0	0	5,8	1,0±0,1
Veillonella sp.	0	0	4,4	1,2±0,2
Грибы:				
Candida sp.	1,3	2,0±0,1	1,4	2,0±0,1

1 – частота обнаружения (%)

2 – уровень бактериурии (КОЕ/мл)

*p<0,05

При бактериологическом исследовании мочи пациентов после дренирования ВМП в структуре бактериальной флоры отмечено доминирование тех же групп микроорганизмов, что и до дренирования. Однако достоверно (p<0,05) снизилась частота обнаружения КОС, энтерококков, корине-, эу-, пропионибактерий, пептококков.

Дренирование ВМП практически не повлияло на частоту обнаружения и уровень бактериурии для большинства выделенных из мочи микроорганизмов (Таблица 1) за исключением достоверного (p<0,05) снижения уровня бактериурии для Klebsiella sp., Providencia sp. и Burkholderia ceracia. После дренирования среди представителей грампозитивной флоры в моче не регистрировали Micrococcus sp. и Bacillus sp., а среди НАБ – Megasphaera sp. Однако

после дренирования в группе НАБ появились 2 рода (*Fusobacterium* sp. и *Veillonella* sp.), которые отсутствовали в моче до дренирования.

Таким образом, при сравнении двух образцов мочи, взятых для бактериологического исследования до и после ликвидации обструкции ВМП у пациентов с ООП установлено, что общий спектр доминирующих групп микроорганизмов сохранился, однако после дренирования почки имеет место снижение ($p<0,05$) частоты выявления некоторых представителей грампозитивной флоры и НАБ.

При динамическом бактериологическом исследовании мочи пациентов 1 группы через 1, 3 и 6 месяцев в спектре общедоказанных патогенов выявлено достоверное снижение ($p<0,05$) частоты обнаружения и уровня бактериурии для всех энтеробактерий. Причем к 6 месяцу наблюдали полную эрадикацию из мочи родов *Proteus* sp. и *Providencia* sp. (Таблица 2).

Таблица 2 – Частота обнаружения микроорганизмов и уровень бактериурии у пациентов 1 группы в динамике исследования

Микроорганизмы	при поступлении		1 месяц		3 месяца		6 месяцев	
	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>E.coli</i>	55,2	5,2	15,7*	2,6*	18,4	2,4	5,2*	2,0*
<i>Klebsiella</i> sp.	21,0	5,3	10,5*	4,5	5,2*	4,0	10,5*	2,5*
<i>Proteus</i> sp.	13,1	4,6	2,6*	4,0	5,2*	3,0*	0	0
<i>Providencia rettgeri</i>	2,6	5,0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	2,6	6,0	0	0	0	0
<i>Burkholderia cepacia</i>	2,6	6,0	0	0	0	0	0	0
KOC	47,3	1,9	76,3*	3,2*	71,0	4,3*	76,3	4,7*
<i>Corynebacterium</i> sp.	28,9	2,0	73,6*	1,4	78,9	2,4*	81,5*	2,3
<i>Enterococcus</i> sp.	28,9	2,3	42,1*	1,6	34,2	1,5	39,4	1,4
<i>S.aureus</i>	10,5	2,0	15,7*	1,1	10,5	1,5	0	0
<i>Streptococcus</i> sp.	0	0	2,6	2,0	0	0	0	0
<i>Micrococcus</i> sp.	0	0	10,5	1,0	10,5	1,0	0	0
<i>Eubacterium</i> sp.	47,3	2,1	57,8*	2,9	63,1	3,6	65,7*	4,6*
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	36,8	2,2	34,2	3,1*	39,4	3,8*	42,1	4,5*
<i>Propionibacterium</i> sp.	31,5	1,8	57,8*	3,5*	63,1	3,8	68,4*	4,6*
<i>Peptococcus</i> sp.	23,6	1,8	50,0*	3,1*	47,3	3,3	42,1	4,0*
<i>Bacteroides</i> sp.	7,8	1,3	7,8	3,0*	5,2	4,5*	18,4*	3,7
<i>Veillonella</i> sp.	0	0	5,2*	1,5	7,8	2,6*	10,5*	2,0
<i>Fusobacterium</i> sp.	0	0	5,2	2,5*	7,8	2,0	5,2	3,5*
<i>Candida</i> sp.	2,6	2,0	15,7*	2,0	0	0	0	0

1 – частота обнаружения (%)

2 – уровень бактериурии (КОЕ/мл)

* $p<0,05$

Через 1 месяц из мочи выделяли *P.aeruginosa* в количестве 10^6 КОЕ/мл, которая (при соответствующей терапии) элиминировала из мочи уже к 3 месяцу наблюдения.

К общедоказанным патогенам в этиологии ООП относят также и энтерококки, частота обнаружения которых варьировала в исследуемые сроки и достоверно повышалась ($p < 0,05$) к 1 и 6 месяцам наблюдения (42,1%, 39,4% соответственно) по сравнению с аналогичным показателем при поступлении (28,9%). Однако уровень бактериурии не превышал формально-допустимый и снижался к 6 месяцу обследования (Таблица 2).

К дискутабельным патогенам в этиологии ООП относят обширную группу КОС, коринебактерии и НАБ. К 6 месяцу наблюдения для большинства представителей вышеперечисленных групп микроорганизмов отмечена тенденция нарастания частоты обнаружения и уровня бактериурии (Таблица 2).

Таким образом, у пациентов 1 группы абсолютную бактериологическую эффективность с элиминацией микроорганизмов из мочи в группе общедоказанных патогенов наблюдали для *E.coli* в 90,5% случаев, для *Klebsiella sp.* в 50,0% случаев, для *Proteus sp.*, *Providencia rettgeri*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* во всех случаях. Однако, с точки зрения относительной бактериологической эффективности, заключающейся не в элиминации бактерий из мочи, а в снижении уровня бактериурии, ее регистрировали и для *E.coli* и для *Klebsiella sp.* В группе дискутабельных патогенов, в частности КОС и НАБ, отсутствовала как абсолютная, так и относительная бактериологическая эффективность с нарастанием к 6 месяцу исследования частоты обнаружения и в большинстве случаев уровня бактериурии до диагностического.

Во 2 группе пациентов, аналогично больным 1 группы в исследуемые сроки, достоверно снижались как частота обнаружения, так и уровень бактериурии для энтеробактерий (Таблица 3). Частота обнаружения энтерококков варьировала незначительно с формально-нормативным уровнем бактериурии во все сроки обследования.

В группе грампозитивной флоры к 6 месяцу наблюдения регистрировали снижение частоты обнаружения КОС (32,3%) и достоверное увеличение ($p < 0,05$) *Corynebacterium sp.* (85,2%). Уровень бактериурии для данных микроорганизмов соответствовал формально-нормативным во все сроки обследования.

В группе НАБ к 6 месяцу наблюдали достоверное снижение уровня бактериурии по сравнению с аналогичными показателями при поступлении (Таблица 3). Частота обнаружения для *Peptococcus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Propionibacterium sp.* достоверно ($p < 0,05$) повышалась, а для *Eubacterium sp.*, наоборот, снизилась к 6 месяцу исследования.

Таблица 3 – Частота обнаружения и уровень бактериурии у пациентов 2 группы в динамике исследования

Микроорганизмы	до дренирования		1 месяц		3 месяца		6 месяцев	
	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>E.coli</i>	50,0	4,7	32,3*	2,6*	26,4*	2,6	8,8*	3,3
<i>Klebsiella sp.</i>	17,6	3,6	8,8*	3,3	8,8	3,3	8,8	2,3*
KOC	41,1	2,6	67,6*	1,5*	76,4*	1,4	32,3*	1,4
<i>Corynebacterium sp.</i>	32,3	1,5	61,7*	1,7	73,5*	1,6	85,2*	1,7
<i>Enterococcus sp.</i>	32,3	1,9	41,9*	1,7	35,2	1,2	35,2	1,7
<i>S. aureus</i>	0	0	14,7	1,0	5,8*	1,0	5,8	1,5
<i>Streptococcus sp.</i>	0	0	2,9	3,0	0	0	0	0
<i>Micrococcus sp.</i>	2,9	1,0	11,7	1,0	0	0	11,7	1,0
<i>Bacillus sp.</i>	2,9	2,0	5,8*	1,0*	0	0	5,8	1,0
<i>Eubacterium sp.</i>	52,9	4,1	61,7*	2,3*	58,8	2,6	41,1*	2,1*
<i>Peptococcus sp.</i>	50,0	3,1	67,6*	1,2*	61,7	1,1	70,5	1,7*
<i>Propionibacterium sp.</i>	26,4	2,7	47,0*	1,5*	67,6*	1,4	64,7	1,5*
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	23,5	3,3	41,1*	2,1*	55,8*	1,8	38,2*	1,6*
<i>Bacteroides sp.</i>	20,5	3,4	20,5	2,1*	11,7*	1,7	20,5*	2,1*
<i>Veillonella sp.</i>	0	0	14,7*	1,2	17,6	1,8	8,8*	2,0
<i>Fusobacterium sp.</i>	0	0	11,7	3,5*	14,7*	1,4*	17,6	2,6*
<i>Megasphaera sp.</i>	2,9	2,0	0	0	2,9	1,0	2,9	1,0
<i>Candida sp.</i>	0	0	8,8	1,6	11,7	1,0	2,9*	1,0

1 – частота обнаружения (%)

2 – уровень бактериурии (КОЕ/мл)

* $p < 0,05$

Таким образом, у пациентов 2 группы к 6 месяцу динамического наблюдения абсолютную бактериологическую эффективность для *E.coli* регистрировали в 82,4% случаев, для *Klebsiella sp.* в 50,0% случаев. Относительную бактериологическую эффективность регистрировали во всех случаях как для общедоказанных, так и дискутабельных патогенов.

Как правило, бактериологическое исследование мочи при ООП проводят однократно при поступлении в стационар. Бактериологическое исследование мочи регламентировано приказом № 535 (1985 г.), который не пересматривался до настоящего времени. Поэтому узкий набор используемых питательных сред (МПА, кровяной агар, среда Эндо) позволяет, соответственно, определить и крайне узкий спектр микроорганизмов (в основном представителей семейства *Enterobacteriaceae* и некоторых кокков). Следовательно, широчайший спектр различных по отношению к кислороду кластеров микроорганизмов остается не верифицированным. На сегодняшний день пересмотрена парадигма о стерильности мочи [10]. Поэтому можно представить, что любой условно-патогенный симбионт данного биотопа может из минорного вида стать доминирующим и инициировать воспалительный процесс в почке, так как обладает определенным арсеналом вирулентных и персистентных характеристик.

Использование расширенного набора питательных сред для культивирования различных по отношению к кислороду микроорганизмов, позволяет улучшить диагностику данного заболевания. Проведенное нами динамическое бактериологическое исследование мочи больных с ООП убедительно доказало, что при антибактериальной терапии, направленной не только на общедоказанные, но и на дискутабельные патогены, относительная бактериологическая эффективность достигается во всех случаях.

При антибиотикотерапии, направленной только на узкий круг общедоказанных патогенов, в частности, *E.coli*, абсолютная бактериологическая эффективность констатируется в 90,5% наблюдений. Однако абсолютная и относительная бактериологическая эффективность отсутствует для представителей грампозитивной флоры и НАБ. Необходимо отметить, что при элиминации из мочи каких-либо одних микроорганизмов, мы наблюдаем повышение частоты обнаружения и уровня бактериурии для других видов. Бесспорно, требуют дальнейшего изучения вопросы причастности каждого определенного вида микроорганизмов к манифестации и поддержанию инфекционно-воспалительного процесса в почке.

Заключение. При антибактериальной терапии ООП направленной исключительно на общедоказанные патогены (энтеробактерии), абсолютная бактериологическая эффективность для *E.coli* регистрируется в 90,5% случаев, для *Klebsiella sp.* – в 50,0%, при этом относительная бактериологическая эффективность отсутствует для дискутабельных патогенов. При антибактериальной терапии направленной на общедоказанные и дискутабельные патогены, абсолютную бактериологическую эффективность для общедоказанных патогенов (*E.coli*) регистрируют в 82,4% случаев, а относительную – во всех случаях как для общедоказанных, так и дискутабельных патогенов.

Список литературы:

1. Статистическая информация. Заболеваемость населения России в 2013 году: в XII ч. – М.; 2014 г. [электронный ресурс] // МЗ РФ, Департамент анализа, прогноза и инновационного развития здравоохранения, ФГБУ «ЦНИИ организации и информатизации здравоохранения» Минздрава. // URL: <http://www.old.rosminzdrav.ru/docs/mzsr/stat/47/1>.
2. Анализ урологической заболеваемости в Российской Федерации в 2002-2009 годах по данным официальной статистики / О. И. Аполихин, А. В. Сивков, Д. А. Бешлиев и др. // Экспериментальная и клиническая урология. – 2012. – №1. – С. 4-10.
3. Бешлиев, Д. А. Диагностика и лечение острого пиелонефрита / Д. А. Бешлиев, Л. А. Ходырева // Трудный пациент. – 2008. – №2-3. – С. 12-13.
4. Colgan, R. Diagnosis and treatment of acute pyelonephritis in women / R. Colgan, M. Williams, J. R. Johnson // American family physician. – 2011, Vol. 84, №5 – P. 519 – 526.
5. Raynor, M. C. Urinary Infections in Men / M. C. Raynor, C. C. Carson // Medical clinics. – 2011, Vol. 95 – P. 43 – 54.
6. Dielubanza, E. J. Urinary Infections in Women / E. J. Dielubanza, A. J. Schaeffer // Medical clinics. – 2011, Vol. 95 – P. 27 – 41.
7. Lynch, T. J. Choosing Optimal Antimicrobial Therapies / T. J. Lynch // Medical clinics. – 2012, Vol. 96 – P. 1079 – 1094.
8. Kim, A. Pyelonephritis [electronic resource] / A. Kim, M. Goldberg, A. Gulati, R. C. Jones // Clinical Key, Published October 13, 2010. Url: <https://www.clinicalkey.com>.
9. Siddiqui, H. Assesing diversity of the female urine microbiota by high throughput sequencing of 16S RNA amplicons / H. Siddiqui, A. J. Nederbragt, K. Lagesen et al. // BMC Microbiol. – 2011. – Vol. 11. – P. 244-251.
10. Fouts, D. E. Integrated next-generation sequencing of 16S rDNA and metaproteomics differentiate the healthy urine microbiome from asymptomatic bacteriuria in neuropathic bladder associated with spinal cord injury / D. E. Fouts, R. Pieper, S. Szpakowski et al. // J. Transl. Med. – 2012, Vol.10 – P 174.