

УДК 616.62-078-053.2

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-1-55-58



Ускоренное бактериологическое исследование мочи и диализата при диагностике инфекций мочевыводящих путей у детей

Л.Г. Боронина^{1,2}, Е.В. Саматова², С.С. Устюгова², С.А. Панова², О.Ю. Куцевалова³¹ Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия;² Областная детская клиническая больница, Екатеринбург, Россия;³ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии, Ростов-на-Дону, Россия

Цель: оценить возможность применения ускоренного метода определения этиологии инфекций в моче, диализате и остаточной антимикробной активности на основе технологии лазерного светорассеивания. **Материалы и методы.** Культурально с января по сентябрь 2019 г. обследовано 106 образцов мочи и 42 образца диализата от детей в возрасте от года до 16 лет с различной патологией мочевыводящей системы, а также находящихся на перитонеальном диализе, на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия), использующем технологию лазерного светорассеивания. **Результаты исследования.** Через три часа после посева 81 проба показала отрицательный результат (76,4%), 25 образцов – положительный (23,6%). В 38 (90,5%) пробах диализата микроорганизмы не обнаружены, в двух образцах выделены *Staphylococcus aureus* (10^4 КОЕ/мл), в одном диализате обнаружены *Corynebacterium* sp., а также ассоциации *Escherichia coli* + *Candida albicans* + *Staphylococcus haemolyticus*, связанные с колонизацией перитонеального катетера. Бактериурия вызвана представителями порядка *Enterobacterales* в 39,3% (*E. coli*, *Morganella morganii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*), неферментирующими грамотрицательными бактериями – в 14,3% (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Oligella* sp., *Acinetobacter baumannii*), *Enterococcus* sp. – 21,4%, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* – 10,7%, *Candida albicans* – 3,6%, контаминация: *Streptococcus viridians*, *Corynebacterium* sp. – 7,1%. Остаточная антимикробная активность в моче выявлена у 30,1% пациентов. **Заключение.** Технология лазерного светорассеивания позволяет ускоренно выявлять минимальную концентрацию микроорганизмов в меньшем количестве мочи или диализата, что очень важно для ускоренной диагностики инфекций мочевыводящих путей и осложнений при перитонеальном диализе у детей.

Ключевые слова: бактериурия, диализат, инфекции мочевыводящих путей, диализ, дети

Поступила в редакцию: 24.11.22. Получена после доработки: 29.11.22. Принята к печати: 24.01.23

Для цитирования: Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Устюгова С.С., Панова С.А., Куцевалова О.Ю. Ускоренное бактериологическое исследование мочи и диализата при диагностике инфекций мочевыводящих путей у детей. Тихоокеанский медицинский журнал. 2023;1:55–58. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-55-58

Для корреспонденции: Боронина Любовь Григорьевна – д-р мед. наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии Уральского государственного медицинского университета (620149, г. Екатеринбург, ул. Серафимы Дерябиной, 32); ORCID: 0000-0003-0152-962X; тел. +7 (343) 231-95-01; e-mail: boroninalg@mail.ru

Accelerated bacteriological examination of urine and dialysate in the diagnosis of urinary tract infections in children

L.G. Boronina^{1,2}, E.V. Samatova², S.S. Ustyugova², S.A. Panova², O.Y. Kutsevalova³¹ Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia; ² Regional Children's Clinical Hospital, Ekaterinburg, Russia;³ National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Aim. To evaluate the feasibility of an accelerated method for determining the etiology of infections in urine, dialysate and residual antimicrobial activity by using laser light scattering technology. **Materials and methods.** From January to September 2019, 106 urine samples and 42 dialysate samples from children aged 1–16 with various urinary pathologies and those on peritoneal dialysis underwent culture-based examination on an ALIFAX HB&L LIGHT analyzer (Alifax, Italy) using laser light scattering technology. **Results.** Three hours after inoculation, 81 samples (76.4%) appeared to be negative and 25 samples (23.6%) proved to be positive. No microorganisms were detected in 38 dialysate samples (90.5%), two samples had *Staphylococcus aureus* (10^4 CFU/ml), and one dialysate sample had *Corynebacterium* sp. and associations of *Escherichia coli* + *Candida albicans* + *Staphylococcus haemolyticus*, associated with peritoneal catheter colonization. Bacteriuria was caused by *Enterobacterales* in 39.3% (*E. coli*, *Morganella morganii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*), non-fermenting gram-negative bacteria – in 14.3% (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Oligella* sp., *Acinetobacter baumannii*), *Enterococcus* sp. – 21.4%, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* – 10.7%, *Candida albicans* – 3.6%, contamination: *Streptococcus viridians*, *Corynebacterium* sp. – 7.1%. Residual antimicrobial activity in urine was detected in 30.1% of patients. **Conclusion.** The laser light scattering technology enables a minimal concentration of microorganisms to be detected in a smaller amount of urine or dialysate, which is very important for accelerated diagnosis of urinary tract infections and complications of peritoneal dialysis in children.

Keywords: bacteriuria, dialysate, urinary tract infections, dialysis, children

Received 24 November 2022. Revised 29 November 2022. Accepted 24 January 2023

For citation: Boronina L.G., Samatova E.V., Ustyugova S.S., Panova S.A., Kutsevalova O.Y. Accelerated bacteriological examination of urine and dialysate in the diagnosis of urinary tract infections in children. Pacific Medical Journal. 2023;1:55–58. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-55-58

Corresponding author: Lyubov G. Boronina, Dr. Sci. (Med.), Prof., Dept. of Clinical Laboratory Diagnostics and Bacteriology of Ural State Medical University (32 Seraphimy Deryabinov str., Ekaterinburg, 620149, Russia); ORCID: 0000-0003-0152-962X; phone: +7 (343) 231-95-01; e-mail: boroninalg@mail.ru

Проблема инфекций мочевыводящих путей (ИМП) становится актуальной уже с первых дней жизни ребенка. Среди доношенных новорожденных частота ИМП достигает 1%, недоношенных – 4–25% [1–4]. В соответствии с действующими методами культурального исследования мочи отрицательные результаты бактериологического исследования могут быть получены не ранее чем через сутки, а при выявлении микроорганизмов – минимум через 48 часов, что замедляет диагностику инфекции, не способствует своевременному и рациональному назначению лечения.

В настоящее время для исследования бактериурии эффективно используют ускоренные методы диагностики [2, 4, 5, 6]. Культуральное исследование по методике лазерного светорассеивания для диагностики бактериурии применяется уже несколько лет [4, 5], а опубликованных результатов исследования диализата данным методом в доступной литературе нами не обнаружено. Ускорение культурального исследования мочи и диализата (до 3 часов) существенно улучшает диагностику инфекций мочевыделительной системы и назначение этиотропной антибиотикотерапии, особенно при получении материала во время оперативных вмешательств и на амбулаторном приеме.

Цель работы – оценить возможность применения ускоренного метода определения этиологии инфекций в моче, диализате и остаточной антимикробной активности на основе технологии лазерного светорассеивания.

Материалы и методы

Материалы, использованные в данном исследовании, не содержат персональных данных, в описании клинических изолятов отсутствуют фамилии и имена пациентов, их адреса и номера истории болезней. В соответствии с требованиями Этического комитета Министерства здравоохранения Российской Федерации законные представители пациентов подписывали информированное согласие при поступлении в лечебное учреждение на проведение лабораторных исследований.

С января по сентябрь 2019 г. исследовано 106 проб мочи и 42 диализата от 115 детей, собранных общепринятым 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 Областной детской клинической больницы с диагнозами: гидронефроз, уретерогидронефроз, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, хронический цистит, острый пиелонефрит, ИМП, киста почки, нейрогенный мочевого пузыря. Образцы мочи, так же как и остаточную антимикробную активность (ОАА), исследовали с помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия).

Посев диализата от пациентов с хронической почечной недостаточностью, находящихся на перитонеаль-

ном диализе, производился общепринятым культуральным методом: на кровяно-сывороточный агар (аэробные и анаэробные условия), тиогликолевую среду, среду для контроля стерильности, микроскопия окрашенного мазка, а также исследовалась с помощью анализатора ALIFAX HB&L LIGHT (Alifax, Италия) с технологией лазерного светорассеивания, позволяющей обнаружить делящиеся микроорганизмы. Образцы мочи, которые демонстрировали индикацию роста в ходе исследования на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT, высевали на кровяной агар по методу Айзенберга [2, 7].

Идентификацию микроорганизмов в положительных образцах осуществляли как ручными бактериологическими методиками, так и с использованием тест-систем для автоматического бактериологического анализатора MicroScan WalkAway 96 (Siemens, Германия) и полуавтоматических анализаторов: ATB Expression (bioMérieux, Франция) и SENSITITRE (TREK Diagnostic Systems, США).

Результаты исследования

Через три часа после начала исследования с применением технологии лазерного светорассеивания получен отрицательный результат для 81 пробы мочи (76,4%), а положительный – для 25 образцов (23,6%).

Анализатор ALIFAX HB&L LIGHT основан на методе лазерного светорассеивания, позволяющего 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. На мониторе анализатора уже через 1,0–1,5 часа обнаруживается кинетическая кривая роста бактерий, характер которой указывает на рост этиологически значимых микроорганизмов и возможных контаминантов в образце. Вследствие особенностей методики бактериальный рост, обнаруживаемый прибором, обусловлен исключительно живыми делящимися бактериями [4, 5, 6].

У пациентов с инфекциями почек и мочевых путей, получающих антибактериальную терапию, при недостаточном оттоке мочи, ее низком удельном весе и pH ниже 5 может наблюдаться низкая степень бактериурии [3, 4]. Поэтому на анализаторе предварительно устанавливаются следующие пороговые значения: 10^3 КОЕ/мл – при ИМП у детей с аномалиями мочевыводящих путей, 10^4 КОЕ/мл – при ИМП у детей без признаков аномалий мочевыводящих путей.

Результаты исследования бактериурии, полученных на анализаторе, и их идентификация представлены в таблице 1.

Для обеспечения большей клинической достоверности и исключения ложноотрицательных результатов параллельно все пробы мочи исследовались на определение ОАА. Для этого использовался отдельный флакон с жидкой питательной средой, который засеивался

штаммом *Staphylococcus epidermidis*, чувствительным к антимикробным препаратам (лиофилизированный штамм *S. epidermidis* поставляется производителем анализатора). После инкубации в анализаторе при 37 градусах через 4 часа по кинетической кривой роста модно на дисплее увидеть результат. Есть рост *S. epidermidis* – проба мочи не содержит антимикробные препараты. Нет роста *S. epidermidis* – проба мочи содержит антимикробные препараты (табл. 2).

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. Остаточная антимикробная активность в моче выявлена в 30,1% проб.

Микробиологическое исследование диализата у пациентов, находящихся на перитонеальном диализе, проводится с целью контроля стерильности, сбор диализата осуществляется в условиях операционной.

В 42 пробах диализата, исследованных с помощью культурального метода и технологии лазерного светорассеивания, выявлена полная корреляция. При этом в 38 пробах (90,5%) рост микроорганизмов не обнаружен, а в 4 пробах (9,5%) – положительный результат (табл. 1).

При исследовании диализатов в двух случаях имело место выявление диагностически значимого гноеродного кокка – *S. aureus* в количестве 10^4 КОЕ/мл и более. В раневом отделяемом из места выхода перитонеального катетера обнаружен умеренный рост *S. aureus*. В одном из диализатов выделен *Corynebacterium* sp. – нормальный представитель микробиоты кожи, видимо, имела место контаминация образца при его сборе. У последнего пациента из диализата обнаружена ассоциация микроорганизмов: *E. coli*, *Candida* sp., *S. haemolyticus* и был диагностирован диализный перитонит.

Обсуждение полученных данных

В пробах мочи выделены представители порядка *Enterobacterales* – в 39,3% проб (*Escherichia coli*, *Morganella morganii*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*), неферментирующие грамотрицательные бактерии – в 14,3% (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia pickettii*, *Oligella* sp., *Acinetobacter baumannii*), *Enterococcus* sp. – 21,4%, коагулазоотрицательные

Таблица 1
Результаты культурального исследования образцов мочи и диализатов

Количество проб, название	Результаты ALIFAX HB&L LIGHT (КОЕ/мл)	Обнаруженные микроорганизмы
n = 106, моча	Рост обнаружен n = 25	
	700000	<i>E. coli</i> ;
	50000000	<i>M. morganii</i>
	400000	<i>C. amalonaticus</i>
	700000	<i>E. cloacae</i>
	70000	<i>P. aeruginosa</i>
	5000000	<i>R. pickettii</i>
	2000	<i>Oligella</i> sp.
	700000	<i>Enterococcus</i> sp.
	5000	<i>S. epidermidis</i>
	4000	<i>S. haemolyticus</i>
	20000000	<i>E. coli</i>
	40000	<i>E. coli</i>
	70000	<i>Enterococcus faecalis</i>
	5000	<i>E. faecalis</i>
	40000	<i>E. cloacae</i>
	70000	<i>E. faecalis</i> + <i>S. haemolyticus</i>
	5000	<i>C. albicans</i>
	5000	<i>A. baumannii</i> + <i>S. epidermidis</i>
	≤ 1000*	<i>Lactobacillus</i> sp.
	7000	<i>E. coli</i>
	500000	<i>E. coli</i> + <i>E. faecalis</i>
	40000	<i>P. aeruginosa</i>
	≤ 1000*	<i>Streptococcus viridians</i>
	≤ 1000*	<i>A. baumannii</i>
	5000	<i>A. baumannii</i> + <i>A. lwoffii</i>
n = 42, диализат	Обнаружен рост n = 4	<i>S. aureus</i>
	70000	<i>S. aureus</i>
	20000000	<i>Corynebacterium</i> sp.
	5000	<i>E. coli</i> + <i>C. albicans</i> + <i>S. haemolyticus</i>
	700000	

Примечание: * – на анализаторе установлены пороговые значения 10^3 КОЕ/мл.

стафилококки – 10,7% (*Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*), *Streptococcus viridians* – 7,1%, *Candida albicans* – 3,6%. Выделение микробных ассоциаций требует дополнительного обсуждения (3,6%). При незначительной степени бактериурии и наличии в образце представителей нормобиоты кожи, свидетельствующей о контаминации, необходимо повторить

Таблица 2

Оценка результатов тестов определения антимикробной активности в образце на анализаторе ALIFAX HB&L LIGHT

ОАА тест с штаммом <i>S. epidermidis</i>	Посев образца на флакон	Результат	Интерпретация
ОАА отрицательный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i>)	Роста микроорганизмов нет	Бактериурии нет	Ингибиторов роста в образце нет
ОАА положительный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i> нет)	Роста микроорганизмов нет	Бактериурии нет	Ингибиторы в образце есть, для контроля лечения необходимо повторить через 48 часов
ОАА положительный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i> нет)	Рост микроорганизмов обнаружен	Бактериурия	В образце есть ингибиторы, антимикробная терапия неэффективна
ОАА отрицательный (рост тест штамма <i>S. epidermidis</i>)	Рост микроорганизмов обнаружен	Бактериурия	Ингибиторов роста в образце нет

исследование с соблюдением правил преаналитического этапа. Если обнаруживаются клинически значимые возбудители в диагностическом титре и контаминанты, исследование также надо повторить, но исследовать антибиотикорезистентность уропатогена.

У некоторых пациентов с хроническими инфекциями мочевыделительной системы ОАА связана с ранним микробиологическим исследованием и отменой антибиотиков за день до исследования, что является нарушением преаналитического этапа, а полученные отрицательные результаты явились, по существу, ложноотрицательными.

При повторных исследованиях через три дня у большей части проб бактериурия не выявлена, а на фоне отсутствия ОАА выделены бактерии в диагностическом титре. Это явление может указывать на неэффективный результат лечения, тогда как при первом исследовании отрицательный результат посева без контроля ОАА мог быть оценен неверно.

При сравнении кривых роста и выявлении видимых отличий кинетических показателей на мониторе анализатора можно видеть данные, свидетельствующие о контаминации пробы. Так как контаминирующие микроорганизмы растут в малых количествах ≤ 1000 КОЕ/мл. Посев из флакона подтвердился обнаружением микроорганизмов – контаминантов с кожи и слизистых оболочек: *S. viridians*, *Lactobacillus* sp.

Фактически в течение четырех часов доказана контаминация пробы при отрицательном результате теста ОАА, свидетельствующем об отсутствии ингибиторов, сделано заключение об отсутствии бактериурии, ингибиторов и контаминация пробы.

Результаты параллельного исследования диализата традиционным методом посева на стерильность полностью совпали с результатами посева по технологии лазерного светорассеивания. Отличие в главном: уже через четыре часа на анализаторе обнаруживаем отсутствие роста, значит диализат стерилен. Культуральное исследование стерильности диализата на средах не позволяет визуально отследить рост, и только через 18–24 часа возможно сделать заключение о стерильности образца. Кроме этого, для анализатора требуется минимальное количество (500 мкл) при посеве.

Особо ценно, на наш взгляд, при исследовании диализатов обнаружение бактериального роста уже в первые 2 часа: на мониторе уже видна кривая роста, через 4 часа культивирования проводился посев и дальнейшая идентификация. Для исследования стерильности диализата быстрое получение информации является наиболее важным, так как заключение при традиционном исследовании на среде для контроля стерильности возможно получить более чем через сутки в соответствии с условиями исследования стерильности.

Заключение

Через три часа после посева 81 проба показала отрицательный результат (76,4%), 25 образцов – положительный (23,6%). Бактериурия вызвана представителями

порядка *Enterobacterales* в 39,3% (*E. coli*, *M. morganii*, *C. amalonaticus*, *E. cloacae*), неферментирующими грамотрицательными бактериями – в 14,3% (*P. aeruginosa*, *R. pickettii*, *Oligella* sp.), *Enterococcus* sp. – 21,4, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* – 10,7%, *C. albicans* – 3,6%, контаминация: *S. viridians*, *Lactobacillus* sp. – 7,1%, Остаточная антимикробная активность в моче выявлена у 30,1% больных. В 38 (90,5%) пробах диализата микроорганизмы не обнаружены, в двух образцах выделен *S. aureus* в 10^4 КОЕ/мл, в одном диализате обнаружены *Corynebacterium* sp.; в другом – ассоциации *E. coli* + *Candida albicans* + *S. haemolyticus*. В 2/3 случаев данные об отсутствии бактериурии получены уже через 3–4 часа от момента посева, так же как и наличие или отсутствие остаточной антимикробной активности. Технология лазерного светорассеивания позволяет ускоренно выявлять минимальную концентрацию микроорганизмов в меньшем количестве мочи или диализата, что важно для ускоренной диагностики инфекций мочевыводящих путей и осложнений перитонеального диализа у детей.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – БЛГ, СЕВ, КОЮ

Сбор и обработка материала – СЕВ, УСС, ПСА

Написание текста – СЕВ, КОЮ

Редактирование – БЛГ

Литература / References

1. Коровина Н.А., Захарова И.Н., Мумладзе Э.Б., Горьянова А.Н. Инфекция мочевой системы у детей: современные подходы к диагностике и лечению. *Русский медицинский журнал*. 2007;(2):1533–42. [Korovina NA, Zaharova IN, Mumladze EB, Goryajnova AN. Urinary tract infection in children: modern approaches to diagnosis and treatment. *Russkij Medicinskij Zhurnal*. 2007;(2):1533–42 (In Russ.)].
2. Бактериологический анализ мочи. Методические рекомендации. М.: Федерация лабораторной медицины, 2013. [*Bacteriological analysis of urine*. Guidelines. Moscow: Federation of Laboratory Medicine; 2013 (In Russ.)].
3. Рекомендации по ведению больных с инфекциями почек, мочевых путей и мужских половых органов (European Association of Urology, 2008). URL: <http://www.urology.ru/index.php?page=17> (дата обращения: 05.05.2020). [*Recommendations for the management of patients with kidney, urinary tract and male genital infections*. (European Association of Urology, 2008) (In Russ.)]. URL: <http://www.urology.ru/index.php?page=17> (Accessed 05.05.2020).
4. Гилязова Д.Г. Ускорение бактериологического анализа с помощью технологии Alifax: результат за часы. *Справочник заведующего КДЛ*. 2014;(3):69–73. [Gilyazova DG. Acceleration of bacteriological analysis with Alifax technology: result in hours. *Spravochnik Zaveduyushchego KLD*. 2014;(3):69–73 (In Russ.)].
5. Ilki A, Bekdemir P, Ulger N, Soyletir G. Rapid reporting of urine culture results: impact of the uro-quick screening system. *New microbiologica*. 2010;33(2):147–53.
6. Ballabio C, Venturi N, Sala MR, Mocarelli P, Brambilla P. Evaluation of an automated method for urine culture screening. *Microbiologia Medica*. 2010;25(3):178–80.
7. Isenberg HD. Essential procedures for clinical microbiology. Washington, D.C.: ASM PRESS; 1998.