

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ОСТРОГО ПИЕЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ

Среди этиологических агентов острого пиелонефрита у детей доминировали эшерихии (43,6%), коагулазоотрицательные стафилококки (32,7%) и анаэробные пептострептококки (23,6%). Часто (52,9%) уропатогены выделялись из мочи в 2- и 3-компонентных ассоциациях. Выделенные уропатогены обладали адгезивной активностью и факторами персистенции.

Введение

Острые и хронические пиелонефриты занимают лидирующую позицию в общей структуре заболеваемости детского возраста. Диагностика пиелонефрита нередко затруднена из-за латентного течения заболевания [8], а также этиологической мультифакторности. Доминирующее положение в этиологии острого пиелонефрита (ОП) у детей занимает грамотрицательная флора, в частности эшерихии, клебсиеллы, протей и др. [5,9]. Из грампозитивной микрофлоры к этиопатогенезу ОП чаще причастны стафилококки и энтерококк. Инфекция мочевыводящей системы (ИМС), включая ОП, нередко обусловлена микст-инфекцией [6]. При анализе бактериальных микст-инфекций, выделенных из мочи детей при ОП, практически не описан анаэробный компонент, включающий неклостридиальные анаэробы. Однако, по данным Зыковой Л.С., Тухватулиной Э.М. и др. [7], обнаружение бактериальных ассоциаций в моче не характерно для детей грудного возраста.

С учетом изложенного актуальным представляется изучение количественного и качественного состава условно-патогенных бактерий, включая неклостридиальные анаэробы, а также спектра бактериальных ассоциаций, причастных к этиологии ОП у детей.

Материалы и методы

Были обследованы 60 детей, из них 37 девочек (61,7%) и 23 мальчика (38,3%) с клиническим диагнозом «острый пиелонефрит» в возрасте от 6 месяцев до 7 лет. У большинства больных (81,0%) заболевание возникло на фоне сопутствующей инфекции дыхательного и кишечного тракта. Реже (19,0%) – без видимого решающего фактора.

Для бактериологического исследования забирали среднюю порцию утренней мочи.

Вследствие того, что бактериурия является одним из базовых признаков заболевания, посева мочи производили до назначения антибактериальной терапии. Мочу транспортировали в лабораторию в течение одного часа после забора. Посевы проводили секторным способом по методике Меньшикова В.В. [10], используя аэробную и анаэробную техники культивирования. Идентификацию выделенных культур микроорганизмов осуществляли по морфотинкториальным, культуральным и биохимическим признакам с помощью Lachema тест-систем. У всех выделенных штаммов определяли показатели адгезии по методике Брилиса В.Г. [1] и факторы персистенции – антилизоцимную (АЛА) и «антиинтерфероновую» («АИА») активность по методикам Бухарина О.В. с соавт. [2, 3].

По данным Бухарина О.В. [4], при обсеменности мочи ниже критической величины ($<10^4$ 10^5 КОЕ/мл) целесообразно исследование у выделенных бактерий факторов персистенции, являющихся дополнительным критерием для дифференциации возбудителей почечной инфекции от транзитной микрофлоры.

Микоплазмы, уреоплазмы и хламидии определяли с помощью стандартной полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя коммерческие ПЦР-диагностические наборы [11]. Выделение ДНК и постановку ПЦР проводили согласно рекомендациям фирм-изготовителей.

Результаты и обсуждение

При бактериологическом исследовании мочи отрицательные результаты регистрировали у 5 детей с ОП (8,3%), а у 55 (91,7%) бактериальные патогены выделяли в монокультуре и в ассоциациях.

У 20 (33,3%) детей уропатогены выделяли из мочи в моноварианте. Среди монокультур доминировали *E. coli* (25,0%), коагулазоотрица-

тельные стафилококки (КОС) (20,0%), реже обнаруживали *Enterobacter sp.* (15,0%), *Pseudomonas sp.* и *Peptostreptococcus sp.* (по 10,0% соответственно). Клебсиеллы, коринеформные бактерии, энтерококки, микоплазмы и уреоплазмы регистрировали в монокультуре в единичных случаях.

У 35 (58,4%) детей с ОП уропатогены выделяли из мочи в ассоциациях. Среди бактериальных ассоциаций в этиологии ОП прослеживалась та же тенденция: лидирующее положение занимали *E. coli* (35,5%) и КОС (25,4%). Подавляющее большинство уроизолятов эшерихий (63,0%) были инагглютинабельными, 37,0% представлены серогруппами O2, O4, O6, O26, O75 и др. Гемолитической активностью обладали 28,0% уроизолятов, лактозонегативные варианты наблюдали у 42,0% штаммов эшерихий. Среди КОС доминировали *S. haemolyticus* (44,4%), *S. epidermidis* (33,3%). Удельный вес *S. warnerii* и *S. hominis* составил по 11,1% соответственно.

При бактериальной микст-инфекции у 20,0% больных из мочи выделяли пептострептококки, которые в подавляющем большинстве случаев были представлены *P. anaerobius* (76,9%), реже – *P. productus* (23,1%). Удельный вес коринеформных бактерий составил 16,4%. Практически с одинаковой частотой в моче детей с ОП обнаруживали хламидии (12,7%), *U. urealyticum* (9,1%) и *M. hominis* (7,3%). Далее, в порядке убывания, к этиологии ОП были причастны клебсиеллы (10,9%), энтерококки (9,1%), бактероиды (5,5%), а также энтеробактеры, протеи, золотистый стафилококк, пропионибактерии (по 3,6% соответственно). Цитробактеры (*C. freundii*) и дрожжеподобные грибы рода *Candida* выделяли в единичных случаях (по 1,8% соответственно).

В результате проведенных исследований при ОП у 18 детей были выявлены 9 вариантов 2-компонентных сочетаний возбудителей (рис. 1).

Наибольший удельный вес среди 2-компонентных ассоциаций в этиопатогенезе ОП имели сочетания эшерихий с КОС (27,9%) и с микоплазмами (16,8%). Значительно реже в качестве возбудителей ОП выступали ассоциации кишечных палочек с клебсиеллами и пептострептококками, а также сочетания КОС + хла-

мидии (по 11,1% соответственно). В единичных случаях (5,5%) из мочи детей ОП выделяли 2-компонентные ассоциации, представленные различными сочетаниями УПБ. Необходимо отметить, что основным ассоциантом в этих вариантах микст-инфекции выступали кишечные палочки (5 вариантов из 9).

3-компонентные ассоциации (8 вариантов) обнаруживали у 13 больных ОП (рис. 2).

Наибольший удельный вес составили сочетания эшерихий с пептострептококками и энтерококками (23,1%). С одинаковым удельным весом (15,4%) регистрировали ассоциации пептострептококков с энтеробактерами и микоплазмами, с коринеформными бактериями и КОС, а также сочетания коринеформных бактерий с микоплазмами и бактероидами. Остальные варианты 3-компонентных ассоциаций выделяли в единичных случаях (по 7,7% соответственно). При 3-компонентных микст-инфекциях основным ассоциантом были пептострептококки, обнаруживаемые в 5 вариантах из 8.

Многокомпонентные (4- и 5-компонентные) микст-инфекции выделяли при ОП у 4 больных. Причем в двух случаях регистрировали сочетания КОС + золотистый стафилококк + коринеформные бактерии + клебсиеллы + пропионибактерии.

Следует отметить, что степень бактериурии у данной группы больных с ОП не зависела от вида возбудителя и варьировала от 10^4 до 10^9 КОЕ/мл. У 37 (67,3%) детей из 55 бактериурия превышала диагностически значимую концентрацию (≥ 100 тыс. КОЕ/мл). Бактериурия ниже диагностического уровня имела место у 18 (32,7%) детей.

Для всех выделенных из мочи штаммов, представителей семейства Enterobacteriaceae, а также КОС, энтерококков и коринебактерий, определяли показатели адгезивной активности и наличие факторов персистенции (АЛА и «АИА»). Оценку этиологической роли уроштаммов при обсемененности мочи ниже критической величины проводили также на основании изучения данных признаков.

В целом среди представителей семейства Enterobacteriaceae адгезивноактивными микроорганизмами были 90,3±4,7% выделенных штаммов. Наибольший удельный вес патогенов с высокоадгезивными свойствами отмечался

среди эшерихий (47,4%), протеев (44,4%) и энтеробактеров (41,7%).

Антилизоцимный признак был распространен среди эшерихий (57,8%) и клебсиелл (50,0%). Следует отметить, что выделенные в ассоциациях энтеробактерии характеризовались более высокими значениями антилизоцимного признака у нетипируемых эшерихий и кишечных палочек различных серогрупп. Средняя величина АЛА составила от $3,1 \pm 0,7$ для протеев до $4,9 \pm 0,6$ для энтеробактеров. Для эшерихий и клебсиелл этот показатель составил $4,3 \pm 0,9$ и $4,6 \pm 1,2$ соответственно.

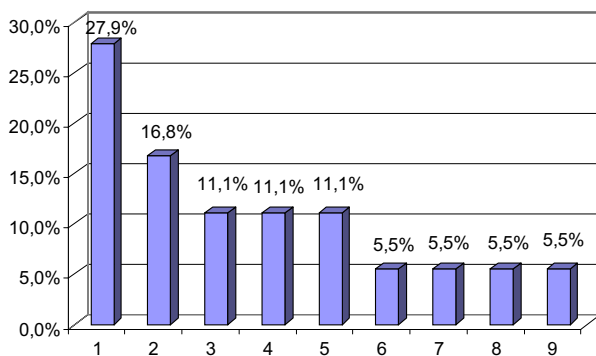
Признак «антиинтерфероновой активности» был более распространен, чем АЛА, у большинства выделенных культур энтеробактерий. У эшерихий, клебсиелл и протеев «АИА» присутствовала у $63,1 \pm 5,2$, $62,5 \pm 5,8$ и $66,6 \pm 7,1$ штаммов соответственно. Средний уровень «АИА» энтеробактерий был достаточно однородным для эшерихий и клебсиелл и варьировал в диапазоне от $2,3 \pm 0,1$ до $2,5 \pm 0,2$ ед.

Анализ показателей активности факторов персистенции для представителей грамположительной микрофлоры выявил общую тенденцию. Адгезивноактивными являлись 80,0% штаммов коринебактерий, 77,8% – КОС и 66,7% энтерококков. Однако подавляющее большин-

ство культур обладали низкими показателями адгезивной активности. Антилизоцимной активностью обладали 40,0% штаммов коринебактерий, 27,7% – КОС, у энтерококков этот признак не регистрировали. Несмотря на достаточно низкую распространенность АЛА у КОС, средняя величина этого показателя была ≥ 5 мкг/мл.

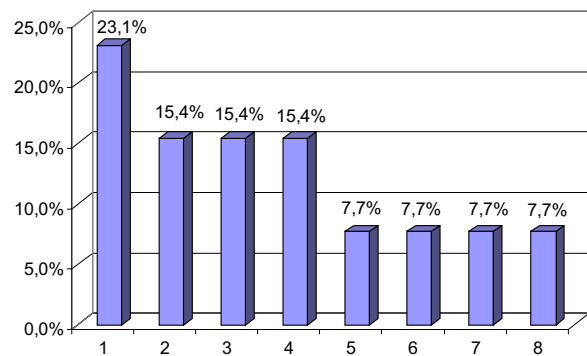
Способность инактивировать бактерицидную фракцию препарата лейкоцитарного интерферона для представителей грамположительной урофлоры была следующей: у штаммов КОС наблюдали диаметрально противоположную зависимость по сравнению с АЛА. 72,3% штаммов обладали данным признаком, количественно варьируя в диапазоне от 2,0 до 5,0 ед. «АИА» также регистрировали у 66,6% штаммов энтерококков и 50,0% штаммов коринебактерий. Уровень АИА для представителей грампозитивной флоры был высоким и в среднем составил $3,2 \pm 0,7$ ед.

Частота обнаружения КОС и коринебактерий, обладающих двумя факторами персистенции (АЛА + «АИА»), составила 40,0% для коринебактерий и 27,8% для КОС. Необходимо подчеркнуть, что те коринебактерии, которые обладали АЛА в 100% случаев, обладали и «АИА».



1. E.coli + КОС
2. E.coli + микоплазмы
3. E.coli + клебсиеллы
4. E.coli + пептострептококки
5. КОС + хламидии
6. Протеи + коринеформные бактерии
7. Клебсиеллы + синегнойная палочка
8. E.coli + хламидии
9. Энтерококки + хламидии

Рисунок 1. Характеристика 2-компонентных бактериальных ассоциаций, выделенных из мочи при ОП у детей.



1. E.coli + пептострептококки + энтерококки
2. Энтеробактер + микоплазмы + пептострептококки
3. Коринеформные бактерии+микоплазмы+бактероиды
4. Коринеформные бактерии+КОС+пептострептококки
5. Цитробактер+коринеформные бактерии+пептострептококки
6. КОС + Candida + пептострептококки
7. КОС + микоплазмы + бактериоиды
8. E.coli + протеи + хламидии

Рисунок 2. Характеристика 3-компонентных бактериальных ассоциаций, выделенных из мочи при ОП у детей.

Таким образом, анализируя бактериальную составляющую в этиологии ОП у детей, можно сделать следующие выводы:

□ доминирующее положение в этиологической структуре ОП занимали кишечные палочки (43,6%) и КОС (32,7%), удельный вес пептострептококков составил 23,6%, а уреоплазм и микоплазм – 16,3%;

□ в подавляющем большинстве случаев (52,9%) уропатогены выделяли из мочи в ассоциациях. Среди ассоциаций преобладали 2-компонентные, с доминированием кишечных пало-

чек, в 3-компонентных ассоциациях лидировали пептострептококки;

□ обращает на себя внимание отсутствие в моче хламидий в моноварианте и их невысокий удельный вес (12,7%) в ассоциациях с другими представителями УПБ;

□ подавляющее большинство штаммов микроорганизмов, в частности выделенные из мочи в количестве ниже диагностически значимого уровня, являлись адгезивноактивными, обладали АЛА и в большей степени «АИА», что свидетельствует об их этиологической причастности к возникновению ОП у детей.

Список использованной литературы:

1. Брилис В.И., Брилине Г.А., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лаб. дело.– 1986.– №4.– С.210-212.
2. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я. Метод определения антилизоцимной активности микроорганизмов // Журн. микробиол.– 1984.– №2.– С.27-28.
3. Бухарин О.В., Соколов В.Ю., Абрамочкин Г.В. Способ определения антиинтерфероновой активности микроорганизмов.– А.с.156491. СССР. 1989 // Открытия.– 1990.– №18.
4. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий.– М.: Медицина, 1999.– 366 с.
5. Бухарин О.В., Вялкова А.А., Грищенко В.А. Клинико-микробиологическое обоснование ранней диагностики пиелонефрита у детей // Российский педиатрич. журн.– 2003.– №2.– С. 42-47.
6. Деревянко Н.И., Котлярова Г.А., Кондратьева Е.М. и др. Этиологическая структура возбудителей воспалительных неспецифических урологических заболеваний и динамика их резистентности к широко применяемым антибиотикам // Урология и нефрология.– 1997.– №3.– С. 3-8.
7. Зыкова Н.С., Тухватулина Э.М., Матыженкова О.В. Особенности пиелонефрита у детей грудного возраста // Российский педиатрич. журн.– 2003.– №2.– С. 8-10.
8. Игнатова М.С., Вельтищева Ю.Е. Детская нефрология. Руководство для врачей. Л.: Медицина, 1989, 455 с.
9. Летифов Г.М. Патогенетические механизмы возникновения и хронизации пиелонефрита у детей. Мат. Российской науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы нефрологии: инфекции мочевой системы у детей».– Оренбург, 2001.– С. 66-70.
10. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. М.: Медицина, 1987, 365 с.
11. Mullis K.B., Faloona F.A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction // Methods Enzymol.– 1987.– Vol.155.– P.335-350.