

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273)
Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
info@cmac-journal.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование
Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2023.

Содержание

Болезни и возбудители

- Эйдельштейн И.А.
332 *Mycoplasma pneumoniae* – современные данные о строении, молекулярной биологии и эпидемиологии возбудителя
- Зырянов С.К., Бутранова О.И., Абрамова А.А.
350 Профиль госпитализированных пациентов с летальным исходом вследствие COVID-19
- Долгополов И.С., Зайцева А.В., Хамцова Ж.В., Иванова А.В., Цветкова Е.О.
358 Диссеминированная инфекция *Mycobacterium genavense* у ранее здорового ребенка: описание клинического случая и обзор литературы

Антимикробные препараты

- Резолюция совета экспертов
366 Цефподоксима проксетил – новые возможности антибактериальной терапии респираторных инфекций
- Козлов Р.С., Иванчик Н.В., Скленова Е.Ю., Микотина А.В., Азизов И.С., Трушин И.В., Дехнич А.В.
372 *In vitro* активность цефподоксима в отношении клинических изолятов *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes*
- Веселов А.В.
379 Клиническая фармакология и практические аспекты применения изавуконазола
- Гомон Ю.М., Колбин А.С., Арепьева М.А., Каляпин А.А., Балыкина Ю.Е., Курылев А.А., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С.
395 Потребление антимикробных препаратов в РФ в 2008–2022 гг.: фармакоэпидемиологическое исследование

Антибиотикорезистентность

- Бочарова Ю.А., Савинова Т.А., Маянский Н.А., Чеботарь И.В.
401 Новые мутации в генах, связанных с устойчивостью к цефидероколу, у клинического изолята *Pseudomonas aeruginosa*

Опыт работы

- Коробова А.Г., Мещурова С.Ю., Трушина Е.Е., Самоходская Л.М.
408 Опыт использования автоматического анализатора для диагностики инфекций мочевыводящих путей
- Каражас Н.В., Пульнова Н.Л., Рыбалкина Т.Н., Бошняк Р.Е., Корниенко М.Н., Аветисян Л.Р., Черешнева Е.В., Иванова М.Ю., Кабикова О.Ф., Габриэлян Н.И.
415 Значение герпесвирусных инфекций в этиологии бронхолегочных осложнений у пациентов, перенесших трансплантацию сердца
- Лавренчук Л.С., Миногина Т.В., Вахрушева Д.В., Скорняков С.Н.
421 Лекарственная устойчивость клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных из резектатов костной ткани пациентов с туберкулезными спондилитами
- Сароянц Л.В., Арнаудова К.Ш., Башкина О.А., Наумов В.З.
428 Роль персонализированной медицины в оценке эффективности лечения лепры

Опыт использования автоматического анализатора для диагностики инфекций мочевыводящих путей

Коробова А.Г.^{1,2}, Мещурова С.Ю.², Трушина Е.Е.^{1,2}, Самоходская Л.М.^{1,2}

¹ Медицинский научно-образовательный центр ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

² Факультет фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

Контактный адрес:
Анна Геннадьевна Коробова
Эл. почта: amalofeeva@yandex.ru

Ключевые слова: инфекции мочевыводящих путей, диагностика, культуральный метод, автоматический анализатор.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.
Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Сравнить результаты микробиологического исследования, полученные на автоматическом анализаторе, с культивированием на плотных питательных средах для оценки возможности и необходимости использования анализатора в исследовании мочи.

Материалы и методы. В исследование включен 231 образец мочи, полученный с февраля по июль 2023 г. от пациентов МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова. Образцы культивировали в соответствии со стандартами микробиологического исследования мочи с использованием хромогенных питательных сред, а также с использованием автоматического анализатора HB&L (Alifax, Италия) в течение 4 ч. 30 мин. для детекции бактериурии 10^2 КОЕ/мл и более и остаточной антимикробной активности. При выявлении роста микроорганизмов в анализаторе в тот же день проводили экстракцию микроорганизмов для ускоренной идентификации. Идентификацию до вида проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Результаты. При использовании культурального метода было получено 160 положительных образцов. Всего выделено 273 изолята, в спектре микроорганизмов преобладали *E. faecalis* (22,3%) и *E. coli* (19,8%), значительную долю составили сомнительные возбудители инфекций мочевыводящих путей и нормобиота (33,7%). При использовании автоматического анализатора только в 100 образцах был выявлен рост микроорганизмов, в 4 случаях положительный результат, полученный на автоматическом анализаторе, не был подтвержден ростом на плотных питательных средах. Таким образом, 64 из 160 положительных культур не были выявлены при использовании автоматического анализатора, причем в 14 из них были обнаружены первичные уропатогены. Остаточная антимикробная активность выявлена в 104 образцах, в том числе в 43 из 64 ложноотрицательных результатов культивирования с помощью автоматического анализатора. Ускоренная идентификация была выполнена для 57 образцов биоматериала, из них в 49 был получен результат идентификации микроорганизмов. Полное или частичное совпадение результатов ускоренной идентификации и классических методов исследования было получено для 48 образцов. Во всех 25 случаях, когда ускоренная идентификация проводилась для образца с монокультурой, было совпадение.

Выводы. Общая чувствительность метода культивирования с использованием автоматического анализатора составила 60%, специфичность – 94,4%. Чувствительность для образцов, содержащих первичные уропатогены, была выше и составила 74,1%, а при их выделении в монокультуре – 87,5%.

Original Article

Experience with the use of an automated system for diagnosis of urinary tract infections

Korobova A.G.^{1,2}, Meshchurova S.Yu.², Trushina E.E.^{1,2}, Samokhodskaya L.M.^{1,2}

¹ Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² Faculty of Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Contacts:
Anna G. Korobova
E-mail: amalofeeva@yandex.ru

Key words: urinary tract infections, diagnosis, culture, automated system.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.
External funding source: no external funding received.

Objective. To compare results of microbiological examination obtained on rapid automated system with semiquantitative plate culture to assess possibility and necessity of using the system in urine examination.

Materials and methods. The study included 231 urine samples collected from February to July 2023 from patients at Lomonosov Moscow State University Medical Research and Educational Center. The samples were cultured according to the standards of urine microbiological examination using chromogenic media and using an automatic HB&L system (Alifax, Italy) for 4 h. 30 min. to detect bacteriuria of 10^2 CFU/ml or more and residual antimicrobial activity. When microbial growth was detected in the analyzer, extraction of microorganisms was performed on the same day for accelerated identification. Identification was performed by MALDI-TOF mass spectrometry.

Results. According to the plate culture method, 160 positive samples were obtained. A total of 273 isolates were isolated, the predominant microorganisms were *E. faecalis* (22.3%) and *E. coli* (19.8%), a

Коробова А.Г. и соавт.

significant part was composed of atypical pathogens for UTI and normobiota (33.7%). According to the rapid automated system, only in 100 samples the growth of microorganisms was detected, in 4 cases the positive result obtained by the automatic system was not confirmed by growth on chromogenic media. Thus, 64 of the 160 positive cultures were not detected using the automated system, and 14 of those ones was *E. coli*. Residual antimicrobial activity was detected in 104 samples, including 43 of 64 false-negative culture results using the automated system. Rapid identification was performed on 57 samples, a microbial identification result was obtained in 49 of them. Complete or partial match between the results of rapid identification and classical methods was obtained for 48 samples. In all cases, when rapid identification was performed for a sample with monoculture, the results of two methods were identical.

Conclusions. An overall sensitivity and specificity of the culture method using an automatic system were 60% and 94.4%, respectively. Sensitivity for samples containing *E. coli* was 74.1%, and for their isolation in monoculture – 87.5%.

Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) – это одна из наиболее часто встречающихся групп заболеваний, вызванных бактериями. По данным официальной статистики, в настоящее время болезни мочеполовой системы занимают третье место в структуре заболеваемости в России.

Для определения этиологического агента ИМП преимущественно используют культуральные методы выделения микроорганизмов из мочи. Среди возбудителей ИМП преобладают энтеробактерии, их доля достигает 66–90,6%, реже встречаются энтерококки, стафилококки и неферментирующие грамотрицательные бактерии [1–3]. Данные бактерии нетребовательны к условиям культивирования и обладают сравнительно высокой скоростью деления, поэтому их можно выделить на стандартных не-селективных плотных питательных средах, таких как кровяной агар, CLED (лактозо-цистиновый агар с пониженным содержанием электролитов) и хромогенные среды, в аэробных условиях при температуре 35°C в течение 18–48 ч. Российские и международные рекомендации по микробиологическому исследованию мочи направлены на выявление основных возбудителей ИМП культуральными методами [4–6], информация о наличии возбудителя может быть получена через 18–48 ч. после начала исследования. Однако в настоящее время основной тенденцией развития лабораторной диагностики является автоматизация и сокращение сроков выдачи результатов исследований в клинические подразделения, поэтому разработаны автоматические системы для исследования различных биоматериалов, в том числе мочи, которые позволяют в течение одного рабочего дня выявить наличие или отсутствие микроорганизмов в образце. Перечень таких автоматических анализаторов довольно широк – HB&L UROQUATTRO (Alifax, Италия), BACSYS-40i (Sysmex, Япония), UF-1000i (Sysmex, Япония) и др. Однако возможность использования таких систем не указана в российских рекомендациях по микробиологическому исследованию мочи, поэтому для выяснения возможности их применения необходимо проводить валидацию методик для каждой лаборатории, так как существуют особенности биоматериала, связанные с пациентами и их нозологиями.

Цель исследования – сравнить результаты микробиологического исследования, полученные на автома-

тическом анализаторе, с культивированием на плотных питательных средах для оценки возможности и необходимости использования анализатора для исследования мочи.

Материалы и методы

Микробиологическое исследование выполнялось на базе лаборатории микробиологии Медицинского научно-образовательного центра МГУ имени М.В. Ломоносова (МНОЦ МГУ) с февраля по июль 2023 г. В исследование были включены образцы свободно выпущенной (средняя порция мочи), собранной катетером, полученной из нефростомы и эпицистостомы мочи. Среди пациентов преобладали мужчины, медиана возраста составила 65 лет (Таблица 1). Больше половины образцов мочи были получены от пациентов, госпитализированных в стационар. Следует отметить, что только у части пациентов были диагностированы ИМП, остальным микробиологическое исследование мочи проводили с целью выявления бактериурии перед проведением диагностического или оперативного урологического вмешательства [7].

Образцы культивировали с помощью стандартных методик в течение 24–48 ч. и с использованием автоматического анализатора HB&L UROQUATTRO (Alifax, Италия) в течение 4 ч. 30 мин. Интерпретацию результатов культивирования проводили согласно рекомендациям по микробиологическому исследованию мочи [4–6]: к первичным уропатогенам относили *Escherichia coli* и *Staphylococcus saprophyticus*; к вторич-

Таблица 1. Характеристика пациентов и полученных образцов мочи

Всего, n	231
Пол (мужчины/женщины), n	132/99
Возраст, медиана (диапазон), лет	65 (18-92)
Госпитализированные пациенты, n (%)	140 (60,6%)
Способ получения образца мочи:	
Свободно выпущенная	182 (78,8%)
Собранная катетером	26 (11,3%)
Полученная другим способом	23 (9,9%)

ным – бактерии порядка Enterobacterales (кроме *E. coli*), *Corynebacterium urealyticum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Haemophilus* spp. и *Streptococcus pneumoniae*; к сомнительным – коагулазонегативные стафилококки (кроме *S. saprophyticus*), *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas* spp. (кроме *P. aeruginosa*), *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus* group, *Brevibacillus* spp., *Globicatella sanguinis*, *Pseudoglutamicibacter cumminsii*, дрожжевые грибы; к нормобиоте мочеполовых путей – *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Corynebacterium* spp. (кроме *C. urealyticum*), α -гемолитические стрептококки, *G. vaginalis*, анаэробы. Такие бактерии, как *B. cereus* group, *Brevibacillus* spp., *G. sanguinis*, *P. cumminsii* не указаны в рекомендациях, однако существуют единичные публикации, в которых подтверждается их роль в развитии ИМП [8–11].

Культивирование на плотных питательных средах

Биоматериал культивировали в соответствии со стандартами микробиологического исследования мочи [5] в аэробных условиях с использованием хромогенных питательных сред для уропатогенов (Oxoid, Великобритания), а также дополнительно (при необходимости) на агаре Сабуро с хлорамфениколом (Oxoid, Великобритания) и в микроаэрофильных условиях на колумбийском агаре (Oxoid, Великобритания) с добавлением бараньей крови. На чашку Петри наносили 10 мкл мочи несекторным методом, далее инкубировали при температуре 35°C. Если рост микроорганизмов отсутствовал в течение 48 ч., то результат исследования считали отрицательным. При получении роста колоний микроорганизмов видовую принадлежность определяли методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации на анализаторе VITEK MS (bioMérieux, Франция).

Культивирование с использованием автоматического анализатора

Параллельно со стандартными методиками проводили культивирование с использованием автоматического анализатора HB&L (Alifax, Италия). Во флакон с зеленой крышкой (Uro-quick screening kit, Alifax) и во флакон с красной крышкой (Uro-quick R.A.A. kit, Alifax) добавляли 500 мкл хорошо перемешанного биоматериала, во флакон с красной крышкой дополнительно вносили 200 мкл штамма *Staphylococcus epidermidis* для определения наличия остаточной антимикробной активности (ОАА) мочи. Далее флаконы помещали в анализатор и культивировали в течение 4 ч. 30 мин. согласно инструкции производителя для детекции бактериурии 10^2 КОЕ/мл и более. Измерение оптической плотности биоматериала во флаконах происходило в автоматическом режиме каждые 5 мин. Результаты измерения отражались на экране прибора в виде сообщения о количестве бактерий в образце в КОЕ/мл, а также в виде «кривой роста» бактерий. Если в течение 4 ч. 30 мин. не было детекции роста микроорганизмов, то результат считали отрицательным.

Методика ускоренной идентификации из положительных флаконов

В части случаев при получении информации о наличии роста флаконы извлекали из анализатора для проведения ускоренной идентификации. Из положительного флакона с зеленой крышкой (Uro-quick screening kit, Alifax) отбирали 1 мл биоматериала и центрифугировали в течение 5 мин. при 5000 об/мин. Далее удаляли надосадочную жидкость и добавляли 300 мкл стерильной дистиллированной воды, перемешивали на вортексе. Повторно центрифугировали в течение 5 мин. при 13000 об/мин. и опять удаляли надосадочную жидкость. Из оставшегося осадка готовили мазок, который далее окрашивали по Граму, а также материал наносили на мишень масс-спектрометра, высушивали на воздухе, покрывали 1 мкл муравьиной кислоты (реагент для предварительной обработки дрожжевых грибов VITEK VSFA, bioMérieux, Франция), затем 1 мкл матрикса (VITEK MS-CHCA, bioMérieux, Франция). Далее идентифицировали на анализаторе VITEK MS (bioMérieux, Франция) в автоматическом режиме.

Результаты

При исследовании 231 образца мочи на плотных питательных средах в 160 (69,3%) из них был получен рост микроорганизмов, всего было выделено 273 изолята (Таблица 2). Доля первичных уропатогенов (*E. coli*) составила 19,8%, ни одного случая выделения *S. saprophyticus* не было. Около половины микроорганизмов (46,5%) относились к вторичным уропатогенам, реже встречались сомнительные уропатогены и нормобиота мочеполовых путей (33,7%) (Рисунок 1).

Культура микроорганизмов была получена в 160 образцах мочи, первичные или вторичные возбудители ИМП были выделены в 76,9% (123/160) образцов, доля монокультур составила 51,9% (83/160) (Таблица 3). Среди образцов, полученных в монокультуре, *E. coli* детектировали в 28,9% (24/83), в смешанных культурах *E. coli* была определена еще в 38,9% (30/77) случаев. Следует отметить, что сомнительные патогены или нормобиота мочеполовых путей были выделены в 23,1% образцов (37/160) в монокультуре.

При культивировании на плотных питательных средах бактериурия была выявлена в 160 (69,3%) образцах, тогда как при культивировании с использованием автоматического анализатора – только в 100 образцах (43,3%), причем в 4 случаях положительный результат, полученный на автоматическом анализаторе, не был подтвержден ростом на плотных питательных средах (Таблица 4). Следует отметить, что среди образцов с несовпадением, только в двух случаях бактерии выделены на плотных питательных средах в монокультуре количестве $\geq 10^5$ КОЕ/мл, но среди них не было первичных патогенов (Таблица 5). В одном случае с помощью анализатора не удалось детектировать наличие *E. faecalis* 10^5 КОЕ/мл, но была определена ОАА мочи, что, вероятно, привело к увеличению периода адаптации

Таблица 2. Спектр микроорганизмов, выделенных из мочи

Микроорганизм	n (%)
Энтеробактерии	95 (34,8%)
<i>Escherichia coli</i>	54 (19,8%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18 (6,6%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3 (1,1%)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1 (0,4%)
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	8 (2,9%)
<i>Morganella morganii</i>	5 (1,8%)
<i>Proteus mirabilis</i>	3 (1,1%)
<i>Proteus vulgaris</i>	1 (0,4%)
<i>Citrobacter</i> spp.	2 (0,7%)
Неферментирующие грамотрицательные бактерии	9 (3,3%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 (1,8%)
<i>Pseudomonas putida</i>	2 (0,7%)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1 (0,4%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (0,4%)
Энтерококки	70 (25,6%)
<i>Enterococcus faecalis</i>	61 (22,3%)
<i>Enterococcus faecium</i>	5 (1,8%)
Другие <i>Enterococcus</i> spp.	4 (1,5%)
Коринебактерии	5 (1,8%)
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	1 (0,4%)
Другие <i>Corynebacterium</i> spp.	4 (1,5%)
Стафилококки	55 (20,2%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 (2,6%)
Коагулазонегативные стафилококки	48 (17,6%)
<i>Streptococcus</i> spp.*	10 (3,7%)
<i>Lactobacillus</i> spp.	10 (3,7%)
Грибы	12 (4,4%)
<i>Candida albicans</i>	6 (2,2%)
<i>Candida glabrata</i>	4 (1,5%)
<i>Candida kefyr</i>	1 (0,4%)
<i>Saprochaete capitata</i>	1 (0,4%)
Другие микроорганизмы**	7 (2,6%)

* *S. agalactiae* (n = 4, 1,5%).

** По два изолята *B. cereus* group и *P. cummingsii*; по одному изоляту *Brevibacillus* spp., *G. sanguinis* и *Lactococcus lactis*.

(лаг-фазы «кривой роста») и к более позднему началу экспоненциальной фазы роста. В 67,2% (43/64) ложноотрицательных образцов наблюдалась ОАА мочи, что могло привести к отсутствию детекции на автоматическом анализаторе. Также автоматическим анализатором

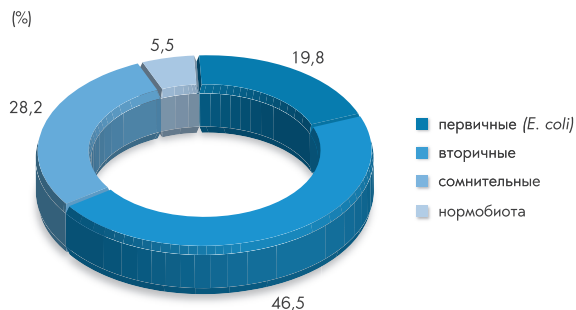


Рисунок 1. Распределение уропатогенов по значимости в развитии ИМП (n = 273)

Коробова А.Г. и соавт.

Таблица 3. Распределение микроорганизмов по образцам

Микроорганизм	n/N (%)
Монокультура	83/160 (51,9%)
<i>E. coli</i>	24/83 (28,9%)
Enterobacterales (кроме <i>E. coli</i>)	12/83 (14,5%)
<i>Enterococcus</i> spp.	18/83 (12,7%)
<i>Streptococcus</i> spp.	4/83 (4,8%)
Дрожжевые грибы	9/83 (10,8%)
Другие*	16/83 (1,7%)
Смешанная культура	77/160 (48,1%)
2 микроорганизма	50/77 (64,9%)
3 микроорганизма	19/77 (24,7%)
4 микроорганизма	7/77 (9,1%)
5 микроорганизмов	1/77 (1,3%)

* 10 изолятов коагулазонегативных стафилококков, 1 – *S. aureus*, 3 – *Lactobacillus* spp., 1 – *P. aeruginosa*, 1 – *G. sanguinis*.

Таблица 4. Сравнение результатов, полученных культуральным методом и с использованием автоматического анализатора

Культуральный метод	Автоматический анализатор	
	Выявлены микроорганизмы	Не выявлены микроорганизмы
Не выявлены микроорганизмы	4	67
Выявлены микроорганизмы	96	64
- первичные уропатогены	40	14
- вторичные уропатогены	41	28
- сомнительные патогены	14	19
- нормобиота	1	3

не было детектировано 4 образца, содержащих дрожжевые грибы, что также может быть связано с низкой скоростью деления этих микроорганизмов и, вследствие этого, нехваткой времени на выявление роста с помощью анализатора. В 54,7% (35/64) образцов не были обнаружены лейкоциты, что может говорить об отсутствии ИМП.

В 4 образцах мочи не было получено роста микроорганизмов на плотных питательных средах, однако автоматический анализатор зафиксировал наличие микроорганизмов. В одном случае характерная «кривая роста» начала появляться спустя 4 ч. культивирования в автоматическом анализаторе. Отсутствие роста микроорганизмов на плотных питательных средах может быть связано с нарушениями в нанесении образца на среду или с наличием в образце трудно культивируемых или медленно растущих микроорганизмов. В 3 случаях на экране автоматического анализатора не было характерной экспоненциальной «кривой роста» микроорганизмов, хотя была информация об определенном количестве КОЕ/мл, в этих случаях исходный биоматериал был получен от пациентов с макрогематурией, и при микроскопии эритроциты занимали большую часть поля зрения.

Таблица 5. Ложноотрицательные результаты (n = 64)

	Микроорганизмы	n (%)	Образцы с ОАА, n (%)
Монокультура		34 (53,1%)	23 (67,7%)
10 ⁵ КОЕ/мл	<i>E. faecalis</i>	1	1
	<i>Lactobacillus</i> spp.	1	1
10 ⁴ КОЕ/мл	<i>E. coli</i>	1	0
	<i>E. faecalis</i>	2	2
	<i>G. sanguinis</i>	1	1
	<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	1	0
	<i>C. glabrata</i>	1	1
10 ³ КОЕ/мл	<i>E. coli</i>	1	0
	<i>E. faecalis</i>	1	1
	<i>S. capitata</i>	1	1
	<i>S. epidermidis</i>	2	2
	<i>Lactobacillus</i> spp.	1	0
10 ² КОЕ/мл	<i>E. coli</i>	1	1
	<i>K. pneumoniae</i>	2	2
	<i>M. morgani</i>	1	1
	<i>Enterococcus</i> spp.	7	5
	<i>S. aureus</i>	1	1
	<i>C. albicans</i>	1	1
	Коагулазонегативные стафилококки	6	1
	<i>Streptococcus gallolyticus</i>	1	1
Смешанная культура		30 (46,9%)	20 (66,7%)
2 микроорганизма		20	12
	Из них <i>E. coli</i> в сочетании	4	3
3 микроорганизма		8	7
	Из них <i>E. coli</i> в сочетании	5	5
4 микроорганизма		2	1
	Из них <i>E. coli</i> в сочетании	2	1

Параллельно с определением бактериурии с помощью автоматического анализатора проводили выявление ОАА. В данном исследовании ОАА была зафиксирована в значительной доле образцов – 45,0% (104/231). Среди 131 образца, отрицательного при культивировании на автоматическом анализаторе, доля образцов с ОАА составила 67,2%.

По результатам нашей работы, общая чувствительность метода культивирования с использованием автоматического анализатора составила 60%, специфичность – 94,4%. Чувствительность для образцов, содержащих первичные уропатогены, была выше и составила 74,1%, а для первичных уропатогенов в монокультуре – 87,5%; для образцов, содержащих вторичные уропатогены – 59,4% (Таблица 4).

При сравнении результатов, полученных культуральным методом и с использованием автоматического анализатора, оказалось, что образцы, содержащие первичные

и вторичные уропатогены, были ложноотрицательными в 34% случаев (42/123), а содержащие сомнительные уропатогены и нормобиоту – в 59,5% (p = 0,007).

Ускоренная идентификация была выполнена для 57 образцов биоматериала, из них в 49 (85,9%) был получен результат идентификации микроорганизмов. В остальных 8 случаях результаты быстрой идентификации были недостоверными: в 7 случаях исходный образец мочи был мутный, что может быть связано с большим количеством лейкоцитов, и еще в одном случае была выделена смешанная культура из 4 микроорганизмов. Полное или частичное совпадение результатов ускоренной идентификации и культуральных методов исследования было получено для 48 (84,2%) из 57 образцов. В 26 из 27 случаев, когда ускоренная идентификация проводилась для образца, содержащего *E. coli*, она была определена правильно. Во всех 25 образцах с монокультурой (*E. coli* [n = 14], *K. pneumoniae* [n = 3], *E. faecalis* [n = 3], *Klebsiella oxytoca* [n = 2]), по одному изоляту *Enterobacter hormaechei*, *P. aeruginosa*, *Lactobacillus acidophilus*) наблюдалось совпадение результатов. Следует отметить, что титр микроорганизмов в этих образцах был $\geq 10^4$ КОЕ/мл.

Обсуждение

С одной стороны, моча – это биоматериал, получение которого в большинстве случаев не требует инвазивных вмешательств и может быть собран пациентом самостоятельно. С другой стороны, для получения адекватного результата микробиологического исследования мочи необходимо четко выполнить правила сбора, хранения и транспортировки материала. Строгое соблюдение всех правил не всегда возможно, поэтому при анализе результатов микробиологического исследования оценивают, является ли выделенный микроорганизм возбудителем ИМП или компонентом нормобиоты мочеполовых путей или кожи пациента. Для такой оценки необходимы данные о наличии симптомов ИМП, применении антибиотиков, способе получения образца и давности установки катетера (при его наличии), а также о наличии лейкоцитов в образце. К сожалению, сотрудникам бактериологической лаборатории не всегда доступна данная информация, поэтому при интерпретации результатов микробиологического исследования мочи используют классификацию микроорганизмов по значимости в развитии ИМП, а также количество выделенных микроорганизмов. В данном исследовании мы разделили образцы на 4 категории – содержащие первичные, вторичные, сомнительные уропатогены и нормобиоту.

Из 231 исследованного образца 53,3% содержали первичные или вторичные возбудители ИМП, 16,0% – сомнительные уропатогены или нормобиоту. Доля образцов, содержащих первичные или вторичные уропатогены одновременно с сомнительными возбудителями или нормобиотой, составила 14,3%. Таким образом, в трети образцов (30,3%) была отмечена контаминация,

которая с высокой вероятностью связана с нарушением правил получения или транспортировки образцов. Следует отметить, что 39,4% образцов мочи, включенных в анализ, были доставлены из амбулаторных подразделений, и большинство из них (96,7%) поступили после 10 ч. утра, позволяя предположить, что их транспортировка от места получения заняла более 2 ч. По данным других исследований, доля положительных образцов мочи также была высока и составляла 61,7–71,9%, среди них 24,2–28,7% были контаминированы нормобиотой кожи и мочеполовых путей [12, 13].

Основными возбудителями ИМП являются бактерии порядка *Enterobacterales*, среди которых преобладает *E. coli* [2, 14], которая является первичным уропатогеном. По нашим данным, в спектре микроорганизмов также преобладали энтеробактерии (34,8%), реже встречались *Enterococcus spp.* (25,6%) и коагулазонегативные стафилококки (17,6%). *E. coli* детектировали в 19,8% положительных образцов, причем в половине случаев эти бактерии были выделены в монокультуре. В данной работе в видовом составе возбудителей первое место занимает *E. faecalis* (22,3%), что не совпадает с данными многоцентровых исследований, где среди возбудителей ИМП преобладают *E. coli* (28,3–74%) и *Klebsiella spp.* (12,7–14,9%) [1, 2]. Различия в спектре микроорганизмов, вероятно, связаны с дизайном исследований. Так, в наше исследование были включены образцы мочи, полученные у пациентов с ИМП и в процессе скрининга перед оперативным вмешательством, а в другие исследования были включены только пациенты с ИМП, в некоторых работах анализировали только микроорганизмы, выделенные в монокультуре [3].

В нашей работе был выявлен высокий процент (45,0%) образцов с ОАА мочи, тогда как в других исследованиях доля таких образцов была ниже и составляла 12,2–25,2% [12, 15]. Такие результаты, вероятно, связаны с особенностью нозологий – большая часть пациентов находилась на лечении в отделениях нефрологии, урологии, онкоурологии, абдоминальной онкохирургии либо планировали госпитализацию в эти отделения, а часть микробиологических исследований мочи проводилась на фоне антибактериальной терапии, которая оказалась неэффективной. Наличие ОАА может быть причиной ложноотрицательных результатов при использовании автоматического анализатора. В данном исследовании среди образцов, ложноотрицательных по данным автоматического анализатора, в 67,2% была выявлена ОАА, то есть в образце были ингибиторы, которые подавляли рост бактерий либо приводили к увеличению стадии адаптации бактерий к питательной среде (лаг-фазы), следовательно, инкубации в течение 4,5 ч. в анализаторе было недостаточно для детекции роста микроорганизмов.

Многие исследователи отмечают, что использование автоматического анализатора позволяет минимизировать получение образцов с контаминацией, так как прибор не успевает детектировать наличие «кривой роста». Так, в исследовании Ilku A. и соавт. [12] среди положительных образцов, полученных только при культивиро-

вании и пропущенных анализатором, 87,6% (148/169) содержали сомнительные патогены и нормобиоту. В нашем исследовании такие сомнительные уропатогены, как коагулазонегативные стафилококки, занимали третье место в спектре микроорганизмов (17,6%). Причем в 10 случаях стафилококки были выделены из мочи в монокультуре, и только 2 образца были положительными при исследовании на автоматическом анализаторе.

По результатам нашей работы, чувствительность детекции бактериурии с использованием анализатора составила 60%, специфичность – 94,4%. Чувствительность для выявления первичных уропатогенов была выше и составила 74,1%, а если образцы содержали вторичные уропатогены – 59,4%. Другими исследователями были получены аналогичные результаты. Так, при исследовании 945 образцов мочи чувствительность автоматического анализатора HB&L (Alifax, Италия) для детекции уропатогенов составила 73%, а специфичность 92,8% [13]. В другом исследовании было проанализировано 1480 образцов, и показатели оказались еще выше – чувствительность 93%, а специфичность 96,9%, правда, были выбраны только те образцы, в которых по данным микроскопии была подтверждена бактериурия либо лейкоцитурия [12]. Другие представленные на рынке анализаторы демонстрировали чувствительность 78,8–80,9%, однако специфичность была ниже – 61,8–78% [13].

В нашем исследовании было только 4 ложноположительных результата при использовании автоматического анализатора. В трех случаях биоматериал был получен от больных с макрогематурией, и на экране автоматического анализатора не было характерной экспоненциальной «кривой роста», а в одном случае характерная «кривая роста» начала появляться спустя 4 ч. культивирования в автоматическом анализаторе. В данном случае отсутствие роста микроорганизмов на плотных питательных средах может быть связано с нарушениями в нанесении образца на среду или с наличием в образце трудно культивируемых микроорганизмов. Так, в работе Колясниковой Н. и соавт. [15] методом ПЦР было исследовано 9 ложноположительных образцов и во всех случаях было выявлено содержание ДНК уропатогенов в количестве более 1000 геномных эквивалентов в мл.

При использовании быстрой идентификации с помощью масс-спектрометрии в 84,2% случаев было получено полное или частичное совпадение с результатом культурального метода исследования, а при выделении микроорганизма в монокультуре совпадение двух методов было в 100% случаев. По данным Ilku A. и соавт. [12], совпадение быстрой идентификации и культурального метода варьировало от 65% до 94,7% в зависимости от видовой принадлежности микроорганизма, но в работе был использован биохимический метод идентификации на автоматическом анализаторе.

Заключение

В проведенном исследовании показана высокая специфичность (94,4%) метода культивирования мочи с

использованием автоматического анализатора. Чувствительность данного метода была ниже и составила 60%, а при выделении первичных уропатогенов в монокультуре – 87,5%. Полученные результаты позволяют говорить о том, что использование анализатора и методов ускоренной идентификации может сократить время получения результата микробиологического исследования мочи, однако для пациентов стационаров урологического и нефрологического профиля, получающих ан-

тибиотики, исследование на анализаторе необходимо дополнять культивированием на плотных питательных средах.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова «Разработка инновационных лабораторных технологий, включая молекулярно-генетические, для диагностики заболеваний» (0708.005 № 123032800010-0).

Литература

- Demir C., Metin S. Microorganisms grown in urine cultures and antimicrobial resistance patterns: A randomised retrospective analysis from a tertiary hospital. *J Infect Dev Ctries.* 2023;17(03):337-344. DOI: 10.3855/jidc.17483
- Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dekhnich A.V., Edelstein M.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S. and "DARMIS-2018" Study Group. Antimicrobial resistance of pathogens causing community-acquired urinary tract infections in Russia: results of the multicenter study "DARMIS-2018". *Klinicheskaa mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya.* 2019;21(2):134-146. Russian. (Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эдельштейн М.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С., исследовательская группа «ДАРМИС-2018». Антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты многоцентрового исследования «ДАРМИС-2018». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):134-146.) DOI: 10.36488/стас.2019.2.134-146
- Perepanova T.S., Kozlov R.S., Dekhnich A.V., Palagin I.S., Shevelev A.N., Volkova E.M., Egamberdiev D.K. Choice of antibacterial drugs in urinary infection. *Urologia.* 2012;(2):4-8. Russian. (Перепанова Т.С., Козлов Р.С., Дехнич А.В., Палагин И.С., Шевелев А.Н., Волкова Е.М., Эгамбердиев Д.К. Выбор антимикробных препаратов при инфекции мочевыводящих путей. Урология. 2012;(2):4-8.)
- Leber A.L. *Clinical microbiology procedures handbook.* 4th ed. Washington: ASM Press; 2016. 2946 p.
- Clinical laboratory diagnostic manuals. Bacteriologic urine analysis, 2019.* Available at: https://antimicrob.net/wp-content/uploads/Bakteriologicheskij-analiz-mochi_metodicheskie-rekomendacii.pdf. Accessed October 17, 2023. Russian. (Руководства по клинической лабораторной диагностике. Бактериологический анализ мочи, 2019. Доступно по адресу: https://antimicrob.net/wp-content/uploads/Bakteriologicheskij-analiz-mochi_metodicheskie-rekomendacii.pdf. Ссылка активна на 17 октября 2023 г.)
- Menshikov V.V. *Clinical laboratory Techniques. Volume 3.* – М.: Labora Ltd., 2009. 880 p. Russian. (Меньшиков В.В. Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие в 3-х томах. Том 3. – М.: ООО «Лабора», 2009. 880 с.)
- Perepanova T.S., Kozlov R.S., Rudnov V.A., Sinjakova L.A., Palagin I.S. Federal Clinical Recommendations. Antimicrobial therapy and prophylaxis of infections of the kidneys, urinary tract and male genital organs – М.: Uromedia 2022. 126 p. (Перепанова Т.С., Козлов Р.С., Руднов В.А., Снякова Л.А., Палагин И.С. Федеральные клинические рекомендации. Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов – М.: Уромедиа 2022. 126 с.)
- Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(2):382-398. DOI: 10.1128/CMR.00073-09
- Suneeva S.C., Prasanth R., Rajesh N.G., Viswanathan P. Transformation of *Brevibacillus*, a soil microbe to an uropathogen with hemagglutination trait. *World J Microbiol Biotechnol.* 2014;30(6):1837-1844. DOI: 10.1007/s11274-014-1605-4
- Matusnami M., Sogi M., Kitazono H., Hosokawa N., Otsuka Y., Ohkusu K. Urosepsis caused by *Globicatella sanguinis* and *Corynebacterium riegellii* in an adult: case report and literature review. *J Infect Chemother.* 2012;18(4):552-554. DOI: 10.1007/s10156-011-0335-x
- Puca E., Koci M., Puca E., Como N. A case report of urinary tract infection from *Pseudoglutamicibacter cumminsii* in an immunosuppressed patient. *New Microbes New Infect.* 2023;53:101133. DOI: 10.1016/j.nmni.2023.101133
- Ilki A., Bekdemir P., Ulger N., Soyletir G. Rapid reporting of urine culture results: impact of the uo-quick screening system. *New Microbiol.* 2010;33(2):147-153. PMID: 20518276.
- Marschal M., Wienke M., Hoering S., Autenrieth I.B., Frick J.S. Evaluation of 3 different rapid automated systems for diagnosis of urinary tract infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;72(2):125-130. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.10.001
- McLellan L.K., Hunstad D.A. Urinary tract infection: pathogenesis and outlook. *Trends Mol Med.* 2016;22(11):946-957. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.09.003
- Kolyasnikova N.M., Tivanova E.V., Timoshina O.Yu., Stankevich D.S., Matosova S.V. Bacteriologic urine culturing for 4 hours using the laser light scattering method: a comparison with traditional sowing on Petri dishes. *Poliklinika.* 2015;(6-1):85-88. Russian. (Колясникова Н.М., Тиванова Е.В., Тимошина О.Ю., Станкевич Д.С., Матосова С.В. Бактериологический посев мочи за 4 часа с применением метода лазерного светорассеяния: сравнение с традиционным посевом на чашки Петри. Поликлиника. 2015;(6-1):85-88.)