

© Лавренчук О.В., 2014

УДК 6016.61 – 002.3 – 036.87:579.61] – 053.2

О. В. ЛАВРЕНЧУК

## ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБІОЦЕНОЗУ У ДІТЕЙ З ХРОНІЧНИМ РЕЦИДИВУЮЧИМ ПІЄЛОНЕФРИТОМ

O. LAVRENCIUK

## MICROBIOCENOSIS IN CHILDREN WITH CHRONIC RECURRENT PYELONEPHRITIS.

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»<sup>1</sup>

SI «Institute of Nephrology of NAMS of Ukraine»

**Ключові слова:** хронічний пієлонефрит, діти, рецидиви, мікробіоценоз кишківника, пробіотики.**Key words:** recurrent pyelonephritis, children, microbiocenosis of intestinis, probiotics.

**Резюме.** Вступлення. Ведущим механизмом инфицирования почек является лимфогенная миграция возбудителя, связанная с транслокацией из кишечника в мезентериальные узлы и кровеносное русло. Уменьшение численности бифидобактерий в равновесии бифидобактерии/энтеробактерии является прогностически неблагоприятным фактором вероятностной персистенции бактерий в мочевыделительной системе.

Цель работы – сопоставить микрофлору мочи с микробиоценозом кишечника, слизистых носа и зева у детей с рецидивирующим пиелонефритом (ПН).

Материалы и методы исследования. Проводилось качественное и количественное исследование микробиологического спектра мочи. У больных с выявленной *E. coli* проводилось сопоставление кишечного микробиоценоза с биоценозом слизистых носа и зева. У 12 пациентов повторное исследование мочи и кала проводилось после окончания приема пробиотика.

Результаты. Выявленное абсолютное преобладание *E. Coli* и у.п.ф. в посевах мочи пациентов с хроническим ПН как в активной стадии так и в ремиссии совпадало с показателями биоценоза кишечника. Стабильно высокая высеваемость *S. aureus* в носоглотке детей с острым и хроническим ПН коррелировала с наличием этого возбудителя в моче и кале. Длительное применение лактосодержащих биопрепаратов привело к снижению энтерококковой и ликвидации патогенной энтерофлоры, стойкой ремиссии ПН с отсутствием интеркуррентной респираторной инфекции в динамике наблюдения.

Заключение. Сопоставление микрофлоры мочи, слизистых носоглотки и микробиоценоза кишечника у больных с рецидивирующим хроническим ПН дает возможность прогнозировать течение и индивидуально корректировать терапию, применяя лактосодержащие пробиотики с противорецидивной целью.

**Summary.** Introduction – the leading mechanism of the kidney infections is the lymphogenous pathogen migration associated with translocation from the mesenteric lymph nodes and blood stream. Reduction in the number of bifidobacteria in the bifidobacteria/enterobacteria balance is an adverse prognostic factor of probably bacteria persistence in the urinary system.

The aim of our study was to compare the urine microflora with the microbiocenosis of the intestinal mucous membrane as well as of the nose and throat mucosa in children with recurrent pyelonephritis (PN).

Material and methods. Qualitative and quantitative investigation of the microbiological spectrum was performed. In patients with the revealed *e. coli* the intestinal biocenosis was compared with the biocenosis of the nose and throat mucosa. The repeated examination of the urine and feces was conducted in 12 patients after the probiotic treatment.

Results. The predominance of *E. coli* and conditionally pathogenic microorganism in the urine tests for patients with chronic PN in active stage as well as in remission coincided with the indicators of the intestine biocenosis. Consistently high inoculation of *S. aureus* in the nasopharynx of children with acute and chronic PN correlated with the presence of this agent in the urine and feces. Prolonged use of probiotics led to decrease of enterococcus and eliminated pathogenic enteroflora, as well as to PN remission with lack of intercurrent respiratory infection in the dynamics of observation.

Conclusion. Comparison of urine microflora with nasopharyngeal mucosa as well as with intestinal mucosa microflora in patients with recurrent chronic PN gives the opportunity to predict the clinical behaviour and to correct individually the treatment using probiotics with antirecurrent purpose.

Лавренчук Ольга Василівна

lvi\_lov@meta.ua

**ВСТУП.** Проблеми профілактики і лікування мікробно-запальних захворювань сечовою системи у дітей, спричинених умовно-патогеною грамнегативною мікрофлорою досить складні. Задача полягає не стільки в лікуванні гострого запального процесу, скільки в запобіганні його рецидування в подальшому. Велика кількість антибактеріальних препаратів на сучасному ринку не вирішує цих проблем. Бактерії мають досить розвинуті механізми адаптації до препаратів і формування антибіотикорезистентності для збереження своїх патогенних властивостей.

В сучасній літературі багато робіт присвячених взаємозв'язку мікробіоценозу товстого кишківника та пієлонефриту (ПН). ПН розглядається як стадійний патологічний процес в паренхімі нирки з тубуло-інтерстиціальним нефритом, який супроводжується періодичними атаками бактеріальної інфекції. Визначені послідовні етапи патогенезу рецидивів ПН: преморбідний етап – потрапляння і накопичення в макроорганізмі мікроорганізмів – потенційних збудників інфекції. Пріоритетним джерелом збудників ПН, здатним акумулювати потенційно умовно-патогенну флору та експортувати її в уротракт, є кишковий мікробіоценоз. Наступний етап - транслокація уропатогенів з похідного біотопу (кишківник, нижні сечові шляхи) в нирки шляхом здолання імунологічних бар'єрів власника. Доведено, що бактеріальна транслокація з кишківника може відбуватися відносно постійно у практично здорових людей. В ланцюзі “Здорові – діти групи ризику по ПН – ремісія хронічного ПН – рецидив хронічного ПН” спостерігається тенденція до погіршення параметрів мікробіоценозу кишківника [1, 2]. Практично у всіх дітей раннього віку і у 82% дітей після 3 років гострий ПН супроводжується кишковим дисбіозом. Встановлено, що зниження кількості біфідобактерій в співвідношенні біфідобактерії/ентеробактерії, наявність в складі мікрофлори поліантибіотикорезистентних культур кишкової палички з високим рівнем експресії антилізоцимних, антиекстерцидних та антикомплементарних ознак на тлі антибактеріальної терапії, є прогностично несприятливим фактором, що вказує на низьку ефективність лікування та велику вірогідність персистенції бактерій в сечовій системі [3].

Провідним механізмом інфікування нирок є лімфогенна міграція збудника, пов'язана з транслокацією з кишківника в мезентеріальні вузли та кровеносне русло. У дитини з дисбіозом може спостерігатися стан ендотоксемії, стимулюючої виробку специфічних антитіл, виникнення ЦІК, їх фіксації в нирках і активації системи комплементу з розвитком імуного запалення в паренхімі нирок [4, 5]. За дослідженнями Л.С.Зикової (1995), доведена

ідентичність виду і біологічних властивостей мікрофлори хворого вилученого з фекалій, сечі і періуретральної ділянки, що дозволяє розцінювати ПН як ендогенне інфекційне захворювання. Діагностований дизбіоз кишківника і періуретральної ділянки стає ініціюючим ланцюгом патогенезу ПН у багатьох дітей. Дизбіоз є обтяжуючим фактором клінічного перебігу ПН, сприяє рецидивуванню захворювання і робить лікування хворих недостатньо ефективним без призначення корекції мікрофлори. Все вищезазначене визначило мету нашого дослідження.

**МЕТА** роботи: співставлення мікрофлори сечі з мікрофлорою кишківника, слизових носу і зіву у дітей з рецидивуючим ПН.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.** В нефрологічному відділенні ДКЛ №7 (клінічна база ДУ “Інститут нефрології НАМНУ” було обстежено 50 дітей (6 місяців-17 років) з різними варіантами гострого та хронічного ПН в активній стадії і ремісії. Діагноз ПН верифікувався на підставі загальноприйнятих лабораторних та інструментальних методів обстеження. Пацієнти в активній стадії ПН отримували антибактеріальне лікування за ступінчастою схемою. Всім хворим до призначення лікування проводилось якісне та кількісне дослідження мікробіологічного спектру сечі. При визначенні в зразках сечі *E. coli*, у цих дітей проводилось співставлення кишкового мікробіоценозу та біоценозу слизових носа і зіву. Кількісне визначення мікрофлори виконувалося за Родоманом. Мікробне число визначали по числу колоній утворюючих одиниць (КУО) в 1 мл досліджуваного взірця або на мазок. Оцінку мікробного навантаження проводили згідно відповідних стандартів [6,9,10]. Кількісні показники мікробного навантаження визначали враховуючи градації: істинна бактеріурія ( $>10^5$  КУО), контамінація ( $10^4$ - $10^3$  КУО), бактерії з середовища культивування (умовно-патогенні бактерії – УПБ - до  $10^3$ ), стерильна сеча (бактерії не виявлено).

Висновок щодо видової належності мікроорганізму робили на підставі комплексу досліджень – даних мікроскопії первинних мазків, результатів посіву на щільні поживні середовища (кількісна оцінка росту різних видів мікроорганізмів, однорідність популяції при посіві на щільні поживні середовища) – згідно наказу МОЗ СРСР № 535 від 22.04.1985 («Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений»). У 12 пацієнтів дослідження сечі і калу проводилось через 2 тижні після закінчення антибактеріального лікування і вживання пробіотиків – лацидофіл в капсулах і біо-гайя в краплях в залежності від віку дитини.

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** Проведені дослідження дозволили підтвердити переважання кишкової палички у всіх хворих на ПН незалежно від форми та варіанту захворювання. Аналізуючи розподіл спектру мікроорганізмів за активністю запального процесу, визначена найбільша кількість висівання кишкової палички у дітей з гострим ПН – до 70,6% і 50,0% - з хронічним ПН. Ідентифікація інших збудників – *Proteus*, *Staphylococcus*, грибів роду *Candida* спо-

стерігалась майже в однаковій кількості як при гострому так і хронічному ПН в активній стадії. На відміну від хворих в активній стадії ПН, у дітей в ремісії хронічного ПН спектр мікроорганізмів сечі був не таким різноманітним, а складався тільки з кишкової палички, грибів роду *Candida* та умовно патогенної флори (у.п.ф.). Звертала увагу велика кількість спостережень – 63,6% *E.coli* та наявності у.п.ф. 27,3% (табл. 1) у цього контингенту хворих.

Таблиця 1

## Спектр мікроорганізмів сечі та частота їх виявлення в залежності від активності ПН (n/%)

Збудник	Клінічні групи (n/%)		
	Гострий ПН активна стадія (n=17)	хронічний ПН активна стадія (n=16)	Хронічний ПН період ремісії (n=11)
<i>E.coli</i>	12/70,6	8/50,0	7/63,7
<i>Proteus</i>	3/17,6	4/25,0	-
<i>Staphylococcus</i>	1/5,9	1/6,3	-
<i>Candida</i>	1/5,9	1/6,3	1/9,1
УПБ	2/11,8	2/12,5	3/27,3
Поєднання мікроорганізмів	2/11,8	2/12,5	1/9,1

При визначенні мікробного навантаження бактеріальних збудників сечі визначалась така

сама закономірність показників при порівнянні активної стадії ПН та ремісії (табл. 2)

Таблиця 2

## Мікробне навантаження зразків сечі дітей, хворих на ПН (/%)

Форма ПН	Мікробне навантаження		
	УПБ	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>5</sup>
Гострий ПН, активна стадія (n=17)	11,8	17,2	20,3
Хронічний ПН, активна стадія (n=16)	25,0	37,5	50,0
Хронічний ПН, ремісія (n=11)	27,3	9,1	18,2,0

Переважають показники контамінації в стадії ремісії до 27,3% та 25,0% спостережень в активній стадії хронічного ПН розцінювалось як бактеріальна персистенція, низька ефективність попереднього лікування через відсутність повної

елімінації збудника та можливість рецидування в подальшому.

Серед домінуючих збудників проводилось вивчення їх патогенних властивостей –гемолітичної та адгезивної активності (табл. 3).

Таблиця 3

## Патогенні властивості штамів виявлених мікроорганізмів із взірців сечі у дітей, хворих на ПН (n/%)

Мікроорганізм	Гемолітична активність		Адгезивна активність (СПА)	
	контрольний штам	штам хворого	контрольний штам	штам хворого
<i>E. coli</i> , n=27	-	5/18,5	3,2	4,5
<i>Enterobacter aerogenes</i> , n=1	-	-	2,5	3,6
<i>P. vulgaris</i> , n=7	-	-	2,8	5,2
<i>K. pneumoniae</i> , n=1	-	-	3,6	4,8

Високий рівень адгезивних властивостей, в 1.5–2 рази більший, підвищення гемолітичної активності, майже в 4 рази у порівнянні з контрольними показниками, свідчив про зростання уропатогеності наявних мікроорганізмів в сечі.

Враховуючи можливість транслокації мікрофлори з кишківника до сечовидільної системи,

ми вивчали стан мікрофлори кишківника у дітей обстеженої групи.

Дослідження частоти відхилень мікрофлори кишківника (стан дизбіозу) виявило переважання ентерококової флори, що співпадало зі спектром мікроорганізмів сечі в подібних групах хворих на ПН (табл. 4).

Таблиця 4

Спектр мікроорганізмів, виділених зі зразків калу дітей, хворих на ПН (n/%)

Форма ПН	Виділений збудник			
	<i>Enterobacter</i>	<i>Candida</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>
Гострий необструктивний ПН (n=13)	4/30.6	-	-	1/7.7
Гострий обструктивний ПН (n=10)	4/40.0	1/10.0	1/10.0	1/10.0
Хронічний необструктивний ПН (n=10)	5/50.0	1/10.0	-	2/20.0
Хронічний обструктивний ПН (n=17)	9/52.9	3/17.6	-	4/23.5

Ознаки дизбіозу полягали в значному дефіциті, або у повній відсутності біфідум-флори у 14% пацієнтів та зростанні лактозонегативних форм ентеробактерій у 38% дітей. Підвищення кількості ентерококів в групах з гострим та з хронічним ПН до 70% і майже 100% відповідно, значно перевищувало нормативні стандарти, як для дітей молодшої, так і для старшої вікових груп. Особливо звертала увагу кількість виділе-

них *Staphylococcus* у хворих на хронічні форми ПН до 43,5% проти 17,7% при гострих формах ПН. При стафілококовому інфікуванні нирок додатковим резервуаром уропатогенів могли бути екстрауренальні вогнища інфекції, для дітей найчастіше це органи носоглотки.

Нами був проаналізований стан мікробіоценозу слизових носу і зіву цієї групи пацієнтів (табл. 5)

Таблиця 5

Спектр мікроорганізмів, виділених зі слизових носу та зіву та частота їх виявлення залежно від варіанту ПН та активності запального процесу у дітей (n/%)

Мікроорганізм	Клінічна група					
	Гострий, стадія активності (n=17)		Хронічний, стадія активності (n=16)		Хронічний, ремісія (n=11)	
	нос	зів	нос	зів	нос	зів
<i>S. pyog</i>	-	-	-	3/18,8		1/9,1
<i>S. agalac.</i>	-	-	1/6,3	1/6,3		
<i>S. aureus</i>	11/64,6	15/88,2	6/37,5	10/62,5	5/45,5	9/81,8
<i>E. faecalis</i>	-	1/5,9	-	2/12,5		
<i>Candida</i>	-	1/5,9	7/43,8	2/12,5	5/45,5	1/9,1
<i>K. pneum.</i>	-	-	-	2/12,5		
<i>S. pneum.</i>	-	-	-	-		
<i>S. pyog.</i>	-	-	-	-		

Стабільно висока частота знаходження *S. aureus* у носоглотці дітей з гострим та хронічним ПН корелює з наявністю цього мікроорганізму в сечі і в калі обстежених пацієнтів. Як відомо з літератури [5,7,8] *S. aureus* відноситься до уропатогенів через наявність широкого

спектру факторів інвазивності і цитотоксичності. Маючи фактори інвазії, альтерації і персистенції *S. aureus* здатен гематогенним шляхом проникати в нирки, ушкоджувати паренхіму та персистувати в нирковій тканині.

У пацієнтів з хронічним ПН спостерігалась досить полівалентна мікрофлора з переважанням умовно-патогенної флори до 62,6%, особливо у дітей в активній стадії захворювання. Згідно з літературних даних, це свідчило про загальний імунodefіцит макроорганізму та перенапругу гуморальної ланки імунітету. Зниження місцевої інфекційної резистентності верхніх дихальних шляхів призводило до формування бактеріального носійства та могло стати постійним джерелом інфікування інших органів.

Вивчення механізмів адгезії дає можливість визначення тактики з патогенетичним підходом до профілактики і лікування ПН. Для лікування дисбіозів кишківника давно застосовується використання антагоністичних властивостей нормальної мікрофлори. При цьому самі про-

біотики, не викликаючи запальної реакції з боку макроорганізму, здатні витіснити умовно-патогенні штами. Серед бактерій-пробіотиків у сучасній літературі багато уваги приділяється лактобактеріям та біфідобактеріям.

В своєму дослідженні 12 дітям з хронічним рецидивуючим ПН призначались пробіотики, що відносились до групи лактобактерій - лацидофіл в капсулах і біо-гайя в краплях в залежності від віку хворих. Хворі отримували препарати як в активній стадії захворювання, сумісно з антибактеріальною терапією, так і після завершення активного лікування протягом місяця.

Згідно отриманих даних практично у всіх дітей відмічалась позитивна динаміка стану кишкового мікробіоценозу (рис. 1).

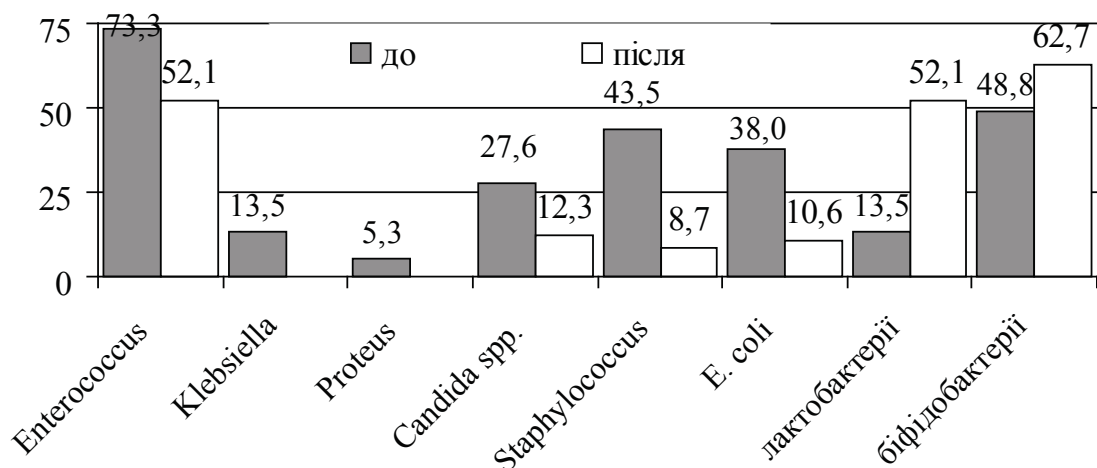


Рис. 1. Частота виявлення мікроорганізмів, визначених при бактеріологічному дослідженні калу у обстежених хворих.

Довгострокове вживання пробіотиків призвело до зниження ентерококової флори до нормативних рівнів 50% і ліквідації патологічних представників ентерококів – *K. pneumoniae* та *P. vulgaris*. На фоні зменшення таких представників у.п.ф. як *S. aureus* і грибів роду *Candida*, значно зросла кількість лакто- і біфідобактерій. Динамічне спостереження за цією групою дітей протягом 4 місяців дозволило констатувати відсутність рецидивів ІСС та взагалі відсутність інτερкурентних респіраторних вірусних захворювань.

**ВИСНОВКИ.** Переважання кишкової палички в контамінаційній кількості в бактеріальних посівах сечі у хворих незалежно від стану активності ПН, співпадало з переважанням ентерококової флори в аналізах калу. У визначеного збудника спостерігався високий рівень адгезивної і гемолітичної активності, що свідчило про високу уропатогенність.

Частота виявлення *S. aureus* у мазках носоглотки корелювала з його наявністю в аналізах сечі і калу у дітей з різними варіантами рецидивуючого ПН.

Вживання пробіотиків з лактобактеріями сприяло нормалізації мікробіоценозу кишківника і запобігало не тільки рецидивам ПН, а й частоті захворювань на ГРВІ.

Вивчення особливостей мікрофлори сечі, слизових носу, зіву, мікробіоценозу кишківника з визначенням мікробного навантаження та співставлення цих показників у хворих з рецидивуючим хронічним ПН, дало можливість прогнозувати перебіг та індивідуально корегувати терапію у хворих на ПН.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Барышнікова Н. В. Синдромы избыточного бактериального роста (дисбиоза) в тонкой кишке и дисбиоза толстой кишки / Н. В. Барышнікова, Е. И. Ткаченко, Ю. П. Успенский // Новости медицины и фармации. – 2009. - № 3-4. – С. 3-6.
2. Бухарин О. В. Факторы уропатогенности бактерий: роль в патогенезе и значение в диагностике пиелонефрита / О. В. Бухарин, В. А. Гриценко, А. А. Вялкова // Нефрология и диализ. – 2001. - № 4. – С. 469–474.

3. Современные представления об этиологии микробно- воспалительных заболеваний органов мочевой системы у детей / А. А. Вялкова, О. В. Бухарин, В. А. Гриценко [и др.] // Нефрология и диализ. – 2001. - № 4. – С.463–469.
4. *Наумова В. И.* Роль фимбриальных адгезинов и продукции некоторых ферментов E.coli в развитии пиелонефрита у детей / В. И. Наумова, Т. Б. Сенцова, Г. М. Султанов // Вопросы охраны материнства и детства. - 1991. - № 3. - С.56-61.
5. *Летифов Г. М.* Патогенетические механизмы возникновения и хронизации пиелонефрита у детей / Г. М. Летифов // Нефрология и диализ. – 2001. - № 4. – С.475–482.
6. *Карпищенко А.И.* Медицинские лабораторные технологии / Справочник. – Интермедика – 2002. – С. 353.
7. *Паскалев Д.* Клинико-лабораторные признаки, способствующие объективизации диагностики обострения хронического пиелонефрита / Д. Паскалев, С. Танчева // Нефрология. - 2007. – Т. 11, №1. - С. 83-89.
8. *Ряпис Л. А.* Микробиологические и популяционно-генетические аспекты патогенности бактерий / Л. А. Ряпис, А. В. Липнецкий // ЖМЭИ. – 1998. - № 6. – С. 109-113.
9. *Скала Л.З.* Практические аспекты современной клинической микробиологии / Скала Л. З., Сидоренко С. В. И др. // ТОО “Лаинформ”. – 1997. – С.83-94.
10. *Smyth M.* Urinary tract infections: role of the clinical microbiology laboratory /Smyth M., Moore J. E., Goldsmith C. E. // Urol. Nurs. - 2006. - V. 26. - P. 198-203.

*Надійшла до редакції 09.04.2014*

*Прийнята до друку 30.04.2014*