

# Технология ускоренной детекции бактериурии как способ оптимизации ранней диагностики почечной недостаточности и инфекционных осложнений у пациентов трансплантологической клиники

**И. А. Милосердов**, к.м.н., зав. хирургическим отделением № 1<sup>1</sup>

**И. В. Драбкина**, врач-бактериолог лаборатории бактериологии отдела эндотоксикозов и гнойно-септических осложнений<sup>1</sup>

**Д. А. Сайдулаев**, врач-хирург хирургического отделения № 1<sup>1</sup>

**И. Р. Курбангулов**, врач-хирург хирургического отделения № 1<sup>1</sup>

**С. О. Шарапченко**, лаборант-исследователь отдела регуляторных механизмов в трансплантологии<sup>1</sup>

**В. Г. Кормилицина**, фельдшер-лаборант лаборатории бактериологии отдела эндотоксикозов и гнойно-септических осложнений<sup>1</sup>

**Т. Б. Сафонова**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии<sup>2</sup>

**М. И. Петрухина**, к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии<sup>2</sup>

**Н. И. Габриэлян**, д.м.н., зав. отделом эндотоксикозов и гнойно-септических осложнений<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Минздрава России, г. Москва

<sup>2</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, г. Москва

## **Early determination of bacteriological status of biological fluid samples as effective method of diagnosing infectious complications in patients of transplant clinic**

I. A. Miloserdov, I. V. Drabkina, D. A. Saydulaev, I. R. Kurbangulov, S. O. Sharapchenko, V. G. Kormilitsina, T. B. Safonova, M. I. Petrukhina, N. I. Gabrielyan

Federal Research Centre for Transplantology and Artificial Organs n.a. academician V.I. Shumakov, Russian Medical Academy for Continuing Professional Education; Moscow, Russia

### Резюме

Концепция обеспечения качества в системе здравоохранения популярна в медицинских учреждениях всего мирового сообщества. Глобальная проблема роста резистентности патогенной и условно патогенной флоры к антибиотикам вызывает острую необходимость применения в современной бактериологической практике новых подходов и методов ускоренной диагностики признаков почечной недостаточности, в частности бактериурии. Цель исследования: оценить возможности ускоренного метода анализа образцов биологических жидкостей (мочи) с целью оптимизации ранней диагностики почечной недостаточности и инфекционных осложнений периоперационного периода у реципиентов донорской почки. Материалы и методы. Исследовано 220 образцов мочи 129 пациентов стационара трансплантологического профиля. Каждая проба оценивалась одновременно двумя способами: традиционным чашечным и автоматизированной системой на основе принципа лазерного светорассеивания. Результаты. При использовании автоматизированного способа в среднем в течение 2 часов (исходя из предварительной ориентировочной визуальной оценки кривой на экране прибора) в отделение выдается ответ о наличии бактериурии с указанием класса возбудителя по Граму. Несовпадение результатов классического и автоматизированных методов наблюдалось в 6,8% от всех образцов, что является стандартом для аналогичных клинических испытаний. Заключение. Отсутствие ложноотрицательных результатов анализа проб мочи с низким титром бактерий и их быстрое получение за счет кинетических измерений растущей культуры методом лазерного светорассеивания имеет явные преимущества перед традиционными методами. Диагностика инфекций мочевыводящих путей у пациентов трансплантологического профиля в более короткие сроки (3,5 часа) является принципиально важной. Экономическая выгода автоматизации процесса анализа позволяет снизить затраты стационара на проведение бактериологических исследований в 1,5 раза.

Ключевые слова: бактериурия, почечная недостаточность, трансплантация почки, лазерное светорассеивание, инфекция мочевыводящих путей.

### Summary

The concept of quality assurance in the health care system is popular for medical institutions all over the world. The problem of global multidrug resistance of pathogenic and opportunistic flora causes an urgent need for new approaches and methods of renal failure (particularly bacteriuria) rapid diagnosis. Objectives. Evaluate the benefits of laser light-scattering method in early diagnosis of renal failure and infectious complications after kidney transplantation. Methods. 220 urine samples from 129 patients were examined. Each sample was evaluated by traditional method and an automated laser light-scattering system simultaneously. Results. The automated method allowed to get the result in an average of 2 hours and give a result of bacteriuria availability with indicating the class of the pathogen by Gram. Discrepancy between the results of classical and automated methods was observed in 6.8% of all samples, which is the standard for similar clinical trials. Conclusions. Laser light-scattering method has clear advantages over traditional methods. Diagnosis of urinary tract infections in kidney recipients in a shorter time (3.5 hours) is especially important. The economic benefit of automated process allows to reduce the costs of the hospital for bacteriological studies by 1.5 times.

Key words: bacteriuria, renal failure, kidney transplantation, laser light-scattering, urinary tract infection.

## Состояние вопроса

Концепция обеспечения качества в системе здравоохранения популярна в медицинских учреждениях всего мирового сообщества. Глобальная проблема роста резистентности патогенной и условно патогенной флоры к антибиотикам вызывает острую необходимость применения в современной бактериологической практике новых подходов. Ранняя идентификация возбудителей и быстрое получение результатов чувствительности к антибиотикам являются одними из приоритетных задач клинической бактериологии. Внедрение в практику ежедневной работы методов, позволяющих в более ранние сроки выявить спектр патологических маркеров, представляет важную составляющую современных технологий ведения пациентов. Особую важность, вне зависимости от специализации клиники и нозологической формы заболевания курируемых пациентов, приобретает использование инновационных методов ускоренной диагностики признаков почечной недостаточности, в частности бактериурии.

В последнее время интерес исследователей привлекают работы, связанные с изучением многогранной и сложной проблемы развития почечной недостаточности. Высокий спрос на лабораторные и иные критерии, оценивающие функциональное состояние почек в стационарах различного профиля связано с огромной ценностью достоверной диагностики функции почек для значимого пула заболеваний, тяжесть течения которых может как напрямую зависеть от состояния почек, так и являться причиной развития почечной патологии. Проработаны материалы соответствующих разделов ресурса PubMed 2014–2018 годов, согласно которым в клиниках, специализирующихся на проведении высокотехнологичных хирургических операций, в том числе трансплантации солидных органов, осложнения и смертность в раннем госпитальном периоде характеризуются именно инфекционной этиологией. При этом среди прочих причин смертности значимую роль играет развитие необратимых нарушений функции почек. Согласно отдельным публикациям, распространенность почечной недостаточности, вызванной бактериальной инфекцией, у пациентов может составлять до 30%.

**Цель настоящей работы** — оценить возможности ускоренного метода анализа образцов биологических жидкостей (мочи) с целью оптимизации ранней диагностики почечной недостаточности и инфекционных осложнений периоперационного периода, а также повышения качества создаваемых индивидуализированных технологий послеоперационного ведения пациентов отделений трансплантации почки.

## Материалы и методы

Исследование проводилось на 220 пробах мочи 129 пациентов Национального медицинского исследовательского центра трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова (г. Москва), находившихся на стационарном лечении. Принимались пробы нативной мочи, собранной в чистую посуду из утренней порции из средней струи, и в течение 2 часов доставлялись в лабораторию, а также из катетеров, мочевых путей, мочевого пузыря.

Каждая проба оценивалась двумя способами: традиционным чашечным и автоматизированным (в рамках апробации технологии ALFRED 60 анализатора HB&L Uro Quattro Light [Alifax, Италия]).

Результаты фиксировались для каждого метода отдельно. Вместе с тем фиксировались клинико-лабораторные данные каждого пациента (вид операции; длительность срока после операции на момент забора пробы, информация о наличии мочевых и внутрисосудистых катетеров, дренажей; данные биохимических исследований, в том числе и о стерильности крови; получаемая антибиотикотерапия; заключения лечащего врача об общем состоянии больного). Общие результаты обсуждались в конце каждой недели с лечащим врачом.

Традиционный стандартизованный посев осуществлялся петлей в 10 мкл с последующей инкубацией при 37 °С в течение 24 часов на чашках Петри со средой. Далее производился подсчет колоний. Положительным считали результат при обсемененности в  $10^3$  КОЕ/мл.

Параллельно с классическим методом осуществлялся автоматизированный анализ образцов мочи: калиброванной пипеткой производился посев 500 мкл мочи в оригинальные флаконы с Eugon-бульоном, которые в дальнейшем устанавливались в анализатор на 3 часа 30 минут с порогом чувствительности  $10^3$  КОЕ/мл. Суть метода основана на принципе лазерного светорассеивания, позволяющего обнаружить живые делящиеся бактерии в образцах и производить полноценный скрининг бактериурии. Наличие делящихся микроорганизмов вызывает отклонение проходящего луча, фиксируемого детекторами. Сигналы обрабатываются программным обеспечением анализатора, которое строит кривые роста и рассчитывает степень обсемененности пробы в КОЕ/мл в течение 3,0–4,5 часа. Чувствительность зависит от заранее выбранного времени протокола анализа (например,  $1 \times 10^4$  КОЕ/мл через 3,0 часа;  $1 \times 10^3$  КОЕ/мл через 3,5 часа). При обнаружении бактериурии любым из вышеуказанных способов, субстрат помещался в бактериологический анализатор WalkAway 96 plus (Beckman Coulter, США) для идентификации микроорганизма и определения чувствительности к спектру антибиотиков (от 12 до 26 наименований).

## Результаты и обсуждение

При использовании автоматизированного способа в среднем в течение 2 часов (исходя из предварительной ориентировочной визуальной оценки кривой на экране прибора) в отделение выдается ответ о наличии бактериурии с указанием класса возбудителя по Граму. Ответ обсуждается с врачом для уточнения факторов выявления. Полный ответ с точным указанием вида микроорганизма и оценкой его антибиотикочувствительности выдается через 18–24 часа. Вместе с тем при классическом методе оценки развития бактериурии полный результат поступает лечащему врачу на сутки позже.

При сравнении двух методов обнаружения бактериурии установлено незначительное (6,8%) несовпадение результатов классического и автоматизированных способов

в 15 образцах, что является стандартом для аналогичных клинических испытаний (опираясь на результаты экспертизы фирмы-производителя и ее заключение об отсутствии клинически значимых расхождений и репрезентативности полученных нами данных).

Нами был проведен тщательный анализ состояния пациентов, по пробам мочи которых зафиксировано несоответствие результатов чашечного и автоматизированного методов. Далее приводим несколько примеров результативности автоматизированного метода исследования проб мочи пациентов после трансплантации почки.

*Пациент А.:* выявлена высокая степень контаминации из внешней среды, приняты меры.

*Пациент Б.:* бактериурия не обнаружена, однако проводилась антибиотикотерапия. Как результат, через 2 часа после анализа пробы она была отменена.

*Пациент В.:* готов к выписке, однако выявлена бактериурия. После консультации с врачом принято решение об удалении стента и повторном анализе мочи, не выявившем контаминацию. Пациент был выписан.

Существует стандартизованная аналитическая технология «Бактериологический анализ мочи», которая устанавливает единые требования при выполнении бактериологического анализа мочи в бактериологических лабораториях медицинских учреждений [1]. Требования относятся к набору и качеству сред, посуды, всех видов материальных ресурсов, времени и особенностям регистрации результатов (результатирующих показателей). Выполнение требований, изложенных в данном документе, обеспечивает качество бактериологического анализа мочи и высокую диагностическую ценность результата, отправляемого врачам клинических подразделений.

Высокий спрос на лабораторные и иные критерии, оценивающие функциональное состояние почек в стационарах различного профиля, связано с огромной ценностью достоверной диагностики функции почек для ряда заболеваний, тяжесть течения которых может как напрямую зависеть от состояния почек, так и являться причиной развития почечной патологии.

Поскольку все обследуемые данного медицинского учреждения не являются обычными пациентами, имея разную степень выраженности иммуносупрессию, а также принимая во внимание, что у многих из длительно лежащих пациентов есть мочевые катетеры, которые являются угрозой для развития катетер-ассоциированных инфекций, мы предположили, что автоматизированный метод будет полезен для клиницистов по следующим характеристикам:

- возможности получения предварительного ответа о наличии или отсутствии роста микроорганизмов в образце;
- высокому уровню стандартизации процесса за счет специализированной готовой жидкой среды, внесения стандартного количества исследуемого материала и автоматического алгоритма считывания результата (каждые 5 минут);
- возможности определения наличия истинных мочевых возбудителей через 1,5–2,0 часа с начала постановки проб.

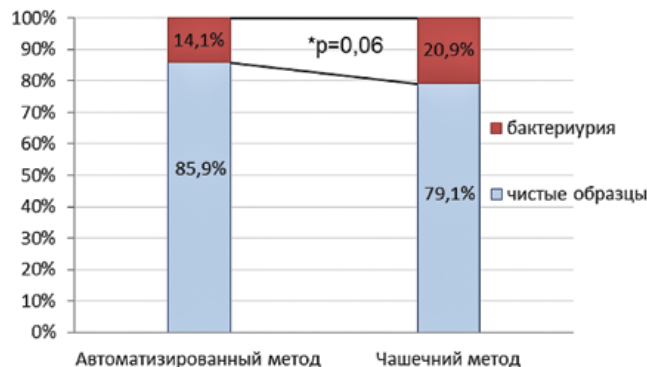


Рисунок. Сравнительный анализ двух методов определения бактериурии (чашечного и автоматизированного) по долевого соотношению положительных и отрицательных проб. Примечание: \* — уровень значимости различий методов по количеству положительных образцов.

Сравнительный анализ двух методов (см. рис.) показал отсутствие между ними статистически значимых различий ( $p = 0,06$ ) по количеству обнаруженных случаев бактериурии.

В табл. 1 представлено распределение показателей обсемененности (КОЕ/мл) полученных образцов мочи при разных методах детекции.

Согласно российским рекомендациям по посеву мочи 2014 года, в России порог значимости степени контаминации составляет  $10^4$  КОЕ/мл и даже меньше, в то время как европейские стандарты несколько отличаются: для обычных амбулаторных больных — выше  $10^5$  КОЕ/мл; для детей и оценки катетеров —  $10^3$  КОЕ/мл.

Для российских отделений интенсивной терапии, трансплантации и т. п. порог чувствительности может быть менее  $10^4$  КОЕ/мл [1–3], в Великобритании это значение составляет  $10^5$  КОЕ/мл и в некоторых случаях выше.

В табл. 2 отражены данные из российских рекомендаций по интерпретации результатов культивирования мочи [2–5].

Как видно из представленных данных, что также подтверждает и современная литература [6–14], выявленные в процессе исследования особенности и преимущества использования автоматизированной методики в бактериологической лаборатории представляют значимость как для сокращения объема неадекватной антибиотикотерапии, так и для снижения напряженности проблемы лекарственной резистентности госпитальных штаммов путем уменьшения пула резистентных штаммов, способных к передаче различных по природе факторов резистентности.

При сравнении методов также установлено, что на исследование 100 проб мочи классическим методом требуется 19 145 руб., тогда как при автоматизированном методе — 11 100 руб. бюджета клиники.

## Заключение

Автоматизация бактериологических исследований позволяет максимально стандартизировать процесс их проведения и получать достоверные диагностические результаты, а ответ о проведенной идентификации возбудителя и результаты активности используемых при ведении пациента антибиотиков выдаются в клиническое подразделение именно в режиме реального времени.

**Таблица 1**  
Показатели обсемененности полученных образцов мочи при разных методах детекции с 18.02.19 по 04.04.19, КОЕ/мл

Количественная оценка результата, КОЕ/мл	Автоматизированный метод		Чашечный метод	
	N	Процент от 220	n	Процент от 220
<10 <sup>4</sup> (отрицательный результат)	189	85,9	174	79,1

**Таблица 2**  
Интерпретация результатов культивирования мочи согласно российским рекомендациям по посеву мочи 2014 года

Вероятность загрязнения, количество выделенных микроорганизмов	Количественная оценка, КОЕ/мл	Интерпретация
<b>Низкая вероятность<sup>а</sup></b>		
1	< 10 <sup>2</sup>	Вероятный контаминант
1	≥ 10 <sup>2</sup>	Значительный изолят
2	< 10 <sup>2</sup> для каждого	Вероятные контаминанты
2	≥ 10 <sup>2</sup> для каждого	Значимый изолят
2	≥ 10 <sup>2</sup> для 1	Значительный изолят и контаминант
≥ 3	≥ 10 <sup>5</sup> для 1	Значительный изолят и контаминант
≥ 3	≥ 10 <sup>5</sup> для 1	Вероятные контаминанты
<b>Высокая вероятность<sup>б</sup></b>		
1	< 10 <sup>2</sup>	Вероятный контаминант
1	≥ 10 <sup>2</sup>	Значительный изолят
2	≥ 10 <sup>5</sup> для каждого	Значительный изолят
2	≥ 10 <sup>5</sup> для 1	Значительный изолят и контаминант
2	< 10 <sup>5</sup> для каждого	Вероятный контаминант
≥ 3	≥ 10 <sup>5</sup> для 1	Значительный изолят и контаминант
≥ 3	≥ 10 <sup>5</sup> для каждого	Вероятные контаминанты

Примечание: а — образцы мочи, полученные с помощью аспирации (надлобковый, мочевого пузыря, мочеточник, почечная лоханка, почка) или одиночной (прямой) катетеризации; образцы, полученные в операционной, и образцы мочи, полученные от пациентов, получающих антимикробную терапию; б — образцы мочи, полученные с помощью метода чистого улавливания, из постоянных катетеров (мочевых или надлобковых) или из нефростомических, уретеростомических трубок.

Представляется важной возможность более раннего обнаружения бактериурии и ее возбудителей автоматизированным способом и выдачи индивидуализированных рекомендаций по выбору работающих антибиотиков. Рекомендации для использования корректной антибактериальной терапии для конкретного случая формируются путем анализа результатов чувствительности выделенного патогена к широкому спектру современных антибиотиков (26 наименований).

Отсутствие ложноотрицательных результатов анализа проб мочи с низким титром бактерий и их быстрое получение за счет кинетических измерений растущей культуры методом лазерного светорассеивания имеют явные преимущества перед традиционными методами. Диагностика инфекций мочевыводящих путей у пациентов

трансплантологического профиля в более короткие сроки (3,5 часа) является принципиально важной, особенно при принятии решения об удалении катетера.

Помимо прочего, применение автоматизированной технологии светорассеивания демонстрирует явные преимущества перед классическим методом по части сокращения времени исследования до семи раз, а также минимизации объемов расходных материалов путем отказа от использования питательных сред. Очевидная экономическая выгода автоматизации процесса анализа позволяет снизить затраты стационара на проведение бактериологических исследований в 1,5 раза.

С точки зрения экономии человеческих ресурсов из работы врача-бактериолога исключается длительный рутинный процесс осмотра чашек на предмет наличия микроорганизмов, что позволяет не только увеличить общую производительность бактериологической лаборатории, но и существенно повысить эффективность мониторинга состояния пациентов за счет освободившегося времени для углубленной аналитической работы и взаимодействия с лечащими врачами.

#### Список литературы

1. Козлов Р. С., Меньшиков В. В., Михайлова В. С., Шуляк Б. Ф., Долгих Т. И., Круглов А. Н., Алиева Е. В., Маликов В. Е. Стандартизованная технология «Бактериологический анализ мочи». // Проблемы стандартизации в здравоохранении. — 2012. — № 5 (6) — С. 45–61.
2. Боронина Л. Г., Саматова Е. В., Кукушкина М. П., Блинова С. М., Устюгова С. С., Панова С. А., Лахно Т. И. Применение инновационных методов для диагностики бактериурии при инфекциях мочевыводящих путей. // Вестник Уральского государственного медицинского университета. — 2016. — № 1 (2) — С. 57–60.
3. Boronina L. G., Kukushkina M. P., Blinova S. M., Samatova E. V., Ustyugova S. S., Panova S. A. Modern methods in diagnosis of neuroinfections at children with hydrocephalus. // Опубликовано в 2017 г. на ECCMID в постерной сессии.
4. Колясникова Н. М., Тиванова Е. В., Тимошина О. Ю., Станкевич Д. С. Бактериальный посев за 4 часа с применением метода лазерного светорассеивания: сравнение с традиционным посевом на чашки Петри. // Поликлиника. — 2015. — № 6 (1) — С. 85–88.
5. Barnini S., Bruculeri V., Morinic P., Lupetti A., Campa M. From positive blood culture to microbiological diagnosis in 4 hours by MALDI-TOF mass spectrometry bacterial identification and rapid antibiogram. // Critical Care — 2012. — N 16.
6. Kroumova V., Gobbato E., Mucedola L., Giani T., Fortina G. Direct identification of bacteria in blood culture by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: a new methodological approach // Rapid Communication in Mass-spectrometry. — 2011. — N25 (15) — P. 2247–2249.
7. Fontana C., Favaro M., Bossa M. C., Minelli S., Altieri A., Pelliccioni M., Falcone F., di Traglia L., Cicchetti O., Favali C. Improved diagnosis of central venous catheter-related bloodstream infections using the HB&L UROQUATTRO™ system. // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. — 2012. — N31 (11) — P. 3139–3144.
8. Ilki A., Bekdemir P., Ulger N., Soyler G. Rapid reporting of urine culture results: Impact of the uro-quick screening system. // New Microbiologica. 2010. — N25 (3) — P. 147–153.
9. Ballabio C., Venturi N., Sala M. R., Mocarelli P., Bramilla P. Evaluation of an automated method for urinoculture screening. // Microbiologia Medica. — 2010. — № 25 — P. 178–180.
10. Athamna K., Zbriger A., Shoshani T., Tannous E., Amarnay K., Freimann S. Rapid automated diagnosis of urinary tract infection regulates the use of antibiotics in obstetrics & gynecology department. // Microbiology laboratory and Pharmacy, Hillel Yaffe Medical Center, Hadera, Israel. Опубликовано в 2015 г. на ECCMID в постерной сессии.
11. Боронина Л. Г., Блинова С. М., Кукушкина М. П., Устюгова С. С., Панова С. А. Ускоренные методы диагностики инфекций мочевыводящих путей у детей. // 2015. Материалы конференции «XVIII Кашкинские чтения».
12. Ronca A., Brenci S., Carrega G., Riccio G., Santoriello L. Evaluation of the HB&L system for the culture of prosthetic and osteoarticular origin samples. // Microbiologia Medica — 2010. — N25 (2).
13. Lillo S., Masi S., Salvatori M., Schiatti R. Применение технологии светорассеивания для бактериологического посева спинномозговой жидкости послеоперационных больных гидроцефалией и онкологических больных. Сокращение времени получения результата и клинический исход (перевод). // Опубликовано в 2014 г. на ECCMID в постерной сессии.
14. Lanzafame P., Zoppelletto M., Gaino M., Ober P. Assessment of a light-scattering system in the culture screening of biological fluid samples. // Trend in Medicine. — 2011. — N11 (3) — P. 125–129.

