

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-3-140-147>

Видовое разнообразие микробиома мочи больных нейрогенным мочевым пузырем ассоциировано с меньшим риском рецидивирования инфекции мочевыводящих путей

КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Е.С. Филиппова^{1,2}, И.В. Баженов^{1,2}, А.В. Зырянов^{1,2}, П.Г. Аминева³

¹ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; д. 3, ул. Репина, Екатеринбург, 620028, Россия

² ГАУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница №1»; д. 185, ул. Волгоградская, Екатеринбург, 620102, Россия

³ ООО «Кволити Мед»; д. 1, ул. Машинная, Екатеринбург, 620141, Россия

Контакт: Филиппова Екатерина Сергеевна, filippova.cat@yandex.ru

Аннотация:

Введение. В настоящее время в медицинской науке происходит формирование новой парадигмы диагностики, лечения и профилактики инфекций мочевыводящих путей (ИМП), основанной на представлении о том, что моча не стерильна и мочевыводящие пути населены разнообразными микроорганизмами, формирующими уробиом. Рецидивирование ИМП остается одной из ведущих проблем в ведении пациентов с нейрогенной дисфункцией нижних мочевыводящих путей (НДНМП), при этом зависимость частоты возникновения рецидивов ИМП от состава микробиома мочи не исследована.

Цель исследования: оценить характер изменений микробиома мочи у больных нейрогенным мочевым пузырем и связь этих изменений с частотой рецидивирования инфекций мочевыводящих путей.

Материалы и методы. Микробиом мочи исследован у 118 больных нейрогенным мочевым пузырем вне рецидива ИМП и у 15 здоровых добровольцев, составивших контрольную группу. Выполняли посевы мочи по модифицированной методике расширенного культурального исследования (EQUC – Enhanced Quantitative Urine Culture) с определением чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам и анализ образцов мочи методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием набора «Андрофлор» (ДНК-Технология, Россия).

Результаты. Бактериальный рост получен в 72% посевах мочи больных НДНМП и 80% – в контрольной группе. В общей сложности выделено 175 изолятов: от 1 до 6 (в среднем $1,76 \pm 1,22$) для каждого пациента. Анализ образцов мочи методом ПЦР позволил выявить наличие ДНК микроорганизмов во всех образцах мочи, в том числе, не давших роста при посеве на питательные среды. Наиболее распространенными микроорганизмами в микробиоме больных НДНМП были: *Escherichia coli* (20%), *Enterococcus faecalis* (19%), *Staphylococcus spp.* (15%), *Streptococcus spp.* (12%), *Klebsiella pneumoniae* (9%). Микробиом пациентов с сохраненным самостоятельным мочеиспусканием был наиболее близок к контрольной группе, но отличался увеличением доли энтеробактерий и *Enterococcus spp.* Присутствие значительного количества представителей нормальной микрофлоры, таких как *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, и, в целом, более разнообразный состав отличали микробиом мочи пациентов, использующих периодическую катетеризацию, от больных с постоянным дренажем. При посеве мочи лиц с рецидивирующей ИМП было получено меньшее количество изолятов, чем от тех, кого не беспокоили частые обострения инфекции ($1 \pm 0,58$ и $2,25 \pm 1,29$ соответственно, $p=0,001$).

Выводы. В микробиоме мочи больных НДНМП преобладают энтеробактерии. Присутствие значительного количества представителей нормальной микрофлоры, таких как *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, и, в целом, более разнообразный состав отличают микробиом мочи пациентов на интермиттирующей катетеризации от тех, кто имеет цистостому или постоянный уретральный катетер. Видовое разнообразие микробиома ассоциировано с меньшей частотой рецидивов инфекции мочевыводящих путей.

Ключевые слова: нейрогенный мочевого пузырь; микробиом; инфекции мочевыводящих путей.

Для цитирования: Филиппова Е.С., Баженов И.В., Зырянов А.В., Аминева П.Г. Видовое разнообразие микробиома мочи больных нейрогенным мочевым пузырем ассоциировано с меньшим риском рецидивирования инфекции мочевыводящих путей. Экспериментальная и клиническая урология 2024;17(3):140-147; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-3-140-147>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-3-140-147>

Species diversity of the urine microbiome in patients with neurogenic bladder is associated with a lower risk of recurrent urinary tract infection

CLINICAL STUDY

E.S. Philippova^{1,2}, I.V. Bazhenov^{1,2}, A.V. Zyrianov^{1,2}, P.G. Amineva³

¹ Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 3, Repina str., Yekaterinburg, 620028, Russia

² Sverdlovsk Regional Clinical Hospital No1; 185, Volgogradskaya str., Yekaterinburg, 620102, Russia

³ Quality Med LLC; 1, Mashinnaya str., Yekaterinburg, 620141, Russia

Contacts: Ekaterina S. Philippova, filippova.cat@yandex.ru

Summary:

Introduction. A new paradigm in the diagnosis, treatment, and prevention of urinary tract infections (UTIs) is currently emerging in medical science, based on the understanding that urine is not sterile and the urinary tract is inhabited by a diverse microbiome. Recurrent UTIs remain one of the leading

problems in the management of patients with neurogenic lower urinary tract dysfunction (NLUTD), but the dependence of UTI recurrence rate on the composition of the urinary microbiome has not been studied.

The purpose of the study was to assess the changes in the urinary microbiome in patients with neurogenic bladder and the relationship between these changes and the frequency of recurrent urinary tract infections.

Materials and methods. The urinary microbiome was studied in 118 patients with neurogenic bladder without UTI recurrence and 15 healthy volunteers as a control group. Urine cultures were performed using the modified enhanced quantitative urine culture (EQUC) method, with determination of antimicrobial susceptibility of the microorganisms, and real-time PCR analysis of urine samples using the Androflor kit (DNA-Technology, Russia).

Results. Bacterial growth was obtained in 72% of urine cultures from NLUTD patients and 80% in the control group. A total of 175 isolates were obtained: from 1 to 6 (on average 1.76 ± 1.22) per patient. PCR analysis of urine samples revealed the presence of microbial DNA in all urine samples, including those that did not show growth on culture media. The most common microorganisms in the microbiome of NLUTD patients were: *Escherichia coli* (20%), *Enterococcus faecalis* (19%), *Staphylococcus spp.* (15%), *Streptococcus spp.* (12%), and *Klebsiella pneumoniae* (9%). The microbiome of patients with preserved spontaneous urination was closest to the control group, but differed in an increased proportion of Enterobacteriaceae and Enterococcus spp. The presence of a significant number of representatives of the normal microflora, such as *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, and a more diverse composition in general, distinguished the urinary microbiome of patients using intermittent catheterization from those with a permanent drainage. Urine cultures of patients with recurrent UTIs yielded fewer isolates than those without frequent infection exacerbations (1 ± 0.58 and 2.25 ± 1.29 , respectively, $p=0.001$).

Conclusions. The urinary microbiome of NLUTD patients is dominated by Enterobacteriaceae. The presence of a significant number of representatives of the normal microflora, such as *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, and a more diverse composition in general, distinguish the urinary microbiome of patients with intermittent catheterization from those with cystostomy or a permanent urethral catheter. Species diversity of the microbiome is associated with a lower frequency of recurrent urinary tract infections.

Key words: neurogenic bladder; urinary tract infection; urinary microbiome.

For citation: Filippova E.S., Bazhenov I.V., Zyrianov A.V., Amineva P.G. Species diversity of the urine microbiome in patients with neurogenic bladder is associated with a lower risk of recurrent urinary tract infection. *Experimental and Clinical Urology* 2024;17(3):140-147; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-3-140-147>

ВВЕДЕНИЕ

Диагностика, лечение и профилактика инфекций мочевыводящих путей (ИМП) составляют одну из наиболее сложных задач в ведении больных нейрогенным мочевым пузырем [1]. Каждый пациент с нейрогенной дисфункцией нижних мочевыводящих путей (НДНМП) переносит в среднем 2,5 эпизода ИМП в год [2]. Рецидивирующая инфекция приводит к снижению функции почек и развитию хронической почечной недостаточности [3]. ИМП на фоне функциональной обструкции мочевого пузыря при НДНМП может приводить к уросепсису и летальному исходу [2, 4].

Рецидивирование ИМП у больных нейрогенным мочевым пузырем связано как с вынужденным использованием катетеризации мочевого пузыря с целью отведения мочи, так и с рядом других механизмов: нарушение уродинамики, гиперактивность детрузора, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, наличие остаточной мочи, снижение местного и общего иммунитета, изменение микробиоценоза мочевыводящих путей [4].

В настоящее время представления о микробиоме мочи кардинально изменились. Длительное время считалось, что мочевой пузырь в норме не содержит микроорганизмов. Однако D.E. Nelson и соавт. в 2010 году, используя методику секвенирования 16S рПНК, обнаружили бактерии в моче здоровых мужчин, а H. Siddiqui и соавт. в 2011 году выявили бактерии в моче здоровых женщин [5, 6]. В этот же период в нашей стране М.И. Коган и соавт, основываясь на результатах расширенных культуральных исследований, доказали, что моча здорового человека не стерильна [7].

D.E. Fouts и соавт. в 2012 г. с помощью метагеномного секвенирования описали изменения в микробиоме больных нейрогенным мочевым пузырем, отметив преобладание в нем энтеробактерий [8]. Эти работы заставили урологов, в целом, изменить взгляд на бессимптомную бактериурию и на вопросы профилактики ИМП [9].

Всестороннее изучение микробиома мочевыводящих путей является не только основой для формирования новой парадигмы лечения ИМП [1, 7, 10, 11], но и важной частью глобального пула работ, посвященных микробиоте человеческого тела.

Продолжаются исследования микрофлоры мочевыводящих путей в норме и при различных урологических заболеваниях [12].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Микробиом мочи исследован различными методами у 118 больных НДНМП и у 15 здоровых добровольцев, составивших контрольную группу. Общая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

В момент забора образцов мочи для исследования никто из пациентов не имел клинических симптомов ИМП. Также пациенты были предупреждены о том, что не должны принимать антибактериальные препараты в течение не менее двух недель до сдачи анализа.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом Свердловской областной клинической больницы №1. Забор образцов мочи выполнялся с письменного согласия пациентов. Пациенты самостоятельно после гигиены половых органов собирали в стерильный контейнер среднюю порцию утренней

Таблица 1. Характеристика пациентов, участвовавших в исследовании микробиома мочи
Table 1. Characteristics of patients participating in urine microbiome testing

Параметры Parameters	Бактериологическое исследование мочи Bacteriological examination of urine		Исследование мочи методом количественной ПЦР Urine testing using quantitative PCR
Количество пациентов Patients quantity	Всего: 133 / Total: 133		
	Больные НДНМП (n-118) NLUTD Patients	Контрольная группа (n-15) Control group	Больные НДНМП (n-15) NLUTD Patients
Средний возраст (M±SD), лет Mean age (M±SD, years)	54,7±23,9	42,3±16,7	39,1±18,4
Минимальный – максимальный возраст в группе (лет) Minimal – Maximal age	18-78	32-54	20-65
Мужской пол Male	39 (33%)	6 (40%)	16 (44%)
Женский пол Female	79 (67%)	9 (60%)	20 (56%)
Этиология НДНМП Etiology of NLUTD			
Рассеянный склероз Multiple sclerosis	54 (46%)	0	6 (40%)
Позвоночно-спинномозговая травма Spinal cord injury	18 (15%)	0	4 (26,7%)
Дегенеративные заболевания позвоночника, в том числе, последствия операций на позвоночнике Degenerative diseases of the spine, including the consequences of spinal surgery	11 (9%)	0	0
Болезнь Паркинсона Parkinson's disease	3 (2,5%)	0	0
Диабетическая полинейропатия Diabetic polyneuropathy	5 (4%)	0	0
Последствия операций на органах малого таза Consequences of pelvic surgery	6 (5%)	0	0
Цереброваскулярная болезнь Cerebrovascular disease	12 (10%)	0	0
Spina bifida	5 (4%)	0	3 (20%)
Другие врожденные нарушения мочеиспускания Other congenital low urinary tract dysfunction	4 (3%)	0	2 (13,3%)
Мобильность Mobility			
Сохранена Normal	71 (60%)	15 (100%)	10 (66,7%)
Ограничение ходьбы Difficulty walking	28 (24%)	0	4 (26,7%)
Инвалидное кресло Wheelchair	19 (16%)	0	1 (6,7%)
Длительность нарушений мочеиспускания (M±SD, лет) Duration of low urinary tract dysfunction (M±SD, years)	12,7±9,6	0	11,5±7,6
Способ опорожнения мочевого пузыря Bladder management			
Самостоятельное мочеиспускание Spontaneous urination	77 (65%)	15 (100%)	5 (40%)
Периодическая катетеризация Intermittent catheterisation	35 (30%)	0	9 (60%)
Цистостома Cystostomy	6 (4,2%)	0	0
Постоянный уретральный катетер Indwelling urinary catheter	1 (0,8%)	0	0

Примечание. M – среднее значение, SD – стандартное отклонение, НДНМП – нейрогенная дисфункция нижних мочевыводящих путей, ПЦР – полимеразная цепная реакция, EDSS – расширенная шкала нарушений жизнедеятельности Куртцке

Note: M – mean, SD – standard deviation, NLUT – neurogenic lower urinary tract dysfunction, PCR – polymerase chain reaction, EDSS – Expanded Kurtzke Disability Scale

мочи. Образцы мочи в течение 1 часа доставляли в лабораторию, где выполнялся посев мочи и полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (количественная ПЦР).

Расширенное культуральное исследование мочи

Посев мочи выполнялся по модифицированной методике EQUIC – Enhanced Quantitative Urine Culture [13], по 10 мкл нативной средней порции мочи стерильной одноразовой калиброванной петлей (Соран, Италия) заседали на 2 чашки. Одну чашку с 5% кровяного агара (Bio-Rad, Франция), хромогенного агара UriSelect4 (Bio-Rad, Франция), шоколадного агара (Bio-Rad, Франция) инкубировали в условиях 5% CO₂ 37°C; вторую чашку с кровяным агаром инкубировали в анаэробных условиях (в анаэроостате с использованием GazPak (BD, США) в течение 48 часов.

Выросшие культуры идентифицировали методом MALDI-TOF масс-спектрометрии на приборе Vitek MS (BioMerieux, Франция), для этого изолированную колонию микроорганизма наносили на спот слайда и покрывали 1 мкл матрикса (цианогидроксикоричная кислота), полученные масс-спектры сравнивали с базой данных через сервис Myla.

Чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом по стандартной методике, описанной EUCAST с использованием агара Мюллера-Хинтона (Bio-Rad, Франция) и дисков, импрегнированных препаратами с определенной нагрузкой (Bio-Rad, Франция). Для считывания антибиотикограмм использовали автоматический анализатор Adagio (Bio-Rad, Франция). Критерии для интерпретации категорий чувствительности по EUCAST: Clinical breakpoints – bacteria (v 9.0).

Исследование микрофлоры мочи методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Подготовка образца мочи. Мочу в объеме 1 мл центрифугировали в течение 5 минут при 10000 g (12000 оборотов в минуту на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия). Полностью удаляли супернатант, к осадку добавляли транспортную среду до конечного объема 0,2 мл, тщательно перемешивали содержимое на вортексе. Пробирку центрифугировали при 13 000 оборотов в минуту в течение 10 минут.

Выделение ДНК и амплификация. После удаления надосадочной жидкости 50 мкл осадка использовали для последующего выделения ДНК с помощью комплекта реагентов «ПРОБА-ГС» (ДНК-Технология, Россия), согласно инструкции производителя. Амплификацию ДНК целевых групп микроорганизмов проводили с помощью набора реагентов «Андрофлор» (ДНК-Технология, Россия) в детектирующем амплифи-

каторе ДТ-96, согласно инструкции производителя (ДНК-Технология; Россия).

Учет результатов. После реакции амплификации по показателю индикаторного цикла с помощью специального программного обеспечения (ДНК-Технология, Россия) проводили автоматический расчет количества общей бактериальной массы и количества бактерий каждой группы в представленном образце. Количество микроорганизмов выражали в геномэквивалентах на 1 мл (ГЭ/мл). Расчет доли отдельных видов и групп бактерий проводили относительно суммы всех выявленных в образце микроорганизмов. Спектр определяемых набором микроорганизмов представлен следующими группами: грамположительные факультативно-анаэробные микроорганизмы (*Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*), грамотрицательные факультативно-анаэробные микроорганизмы (*Haemophilus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa/Ralstonia spp./Burkholderia spp.*), группа *Enterobacterales/Enterococcus spp.*, облигатно-анаэробные микроорганизмы (*Gardnerella vaginalis*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.*, *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.*, *Bacteroides spp./Porphyromonas spp./Prevotella spp.*, *Anaerococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Atopobium cluster*), микоплазмы (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*), нормальная микробиота (*Lactobacillus spp.*), грибы рода *Candida*.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного пакета SPSS 23.0. Оценку статистической значимости различий проводили по t-критерию Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Для определения тесноты связи между переменными использовали коэффициент корреляции Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты бактериологического исследования мочи

Бактериальный рост получен в 72% посевах мочи больных НДНМП и 80% – в контрольной группе. В общей сложности выделено 175 изолятов: от 1 до 6 (в среднем $1,76 \pm 1,22$) для каждого пациента.

По результатам расширенного культурального исследования в посевах мочи у здоровых женщин преобладали *Lactobacillus spp.* (40%), *Staphylococcus spp.* (13%), *Bifidobacterium spp.* (13%), *Streptococcus spp.* (7%), *Corynebacterium spp.* (7%), *Gardnerella vaginalis* (6%). В моче мужчин контрольной группы были выявлены *Corynebacterium glucuronolyticum* (33%), а также с одинаковой частотой, равной 16-17%, *Staphylococcus* ■

epidermidis, *Streptococcus mitis*, *Gardnerella vaginalis* и *Lactobacillus crispatus*.

Наиболее распространенными микроорганизмами в посевах мочи больных НДНМП были: *Escherichia coli* (20%), *Enterococcus faecalis* (19%), *Staphylococcus spp.* (15%), *Streptococcus spp.* (12%), *Klebsiella pneumoniae* (9%). Структура микробиома представлена на рисунке 1.

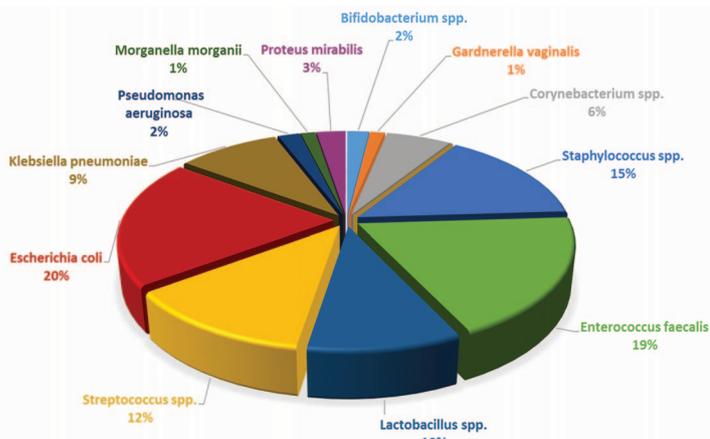


Рис. 1. Состав микробиома мочи больных нейрогенным мочевым пузырем по данным культурального исследования
Fig. 1 Composition of the urine microbiome of patients with neurogenic bladder according to cultural studies

В составе микробиома мочи больных нейрогенным мочевым пузырем, также, как и в контрольной группе, отмечены половые различия (рис. 2). В моче мужчин чаще встречались *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, и не были обнаружены присутствовавшие у женщин представители *Bifidobacteriaceae* и *Lactobacillaceae*.

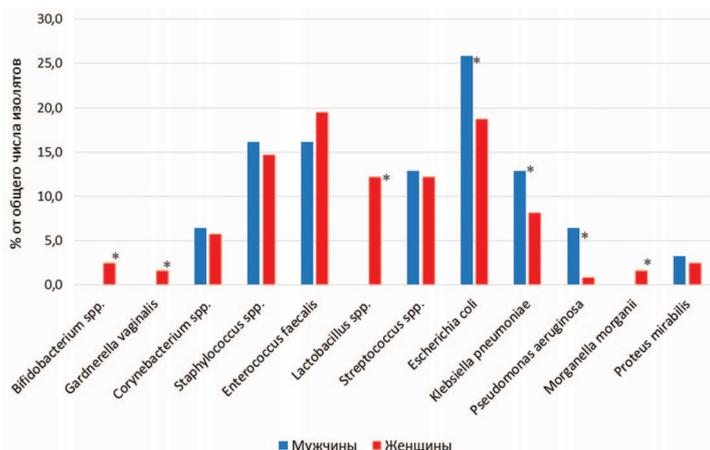


Рис. 2. Состав микробиома мочи мужчин и женщин с нейрогенным мочевым пузырем по данным культурального исследования (*различия достоверны для $p < 0,05$)
Fig. 2. The composition of the urine microbiome of men and women with neurogenic bladder based on culture-based analysis (*differences are significant for $p < 0,05$)

При сравнении уробиома мужчин, страдающих нейрогенной дисфункцией нижних мочевыводящих путей, и пациентов контрольной группы, обращает на себя внимание смещение видового состава в пользу энтеробактерий (*E. coli* и *K. pneumoniae*, $p < 0,05$), присутствии *Pseudomonas aeruginosa* ($p < 0,05$) и отсутствие

таких представителей нормальной микрофлоры, как *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.* и *Gardnerella vaginalis*.

В моче женщин, больных нейрогенным мочевым пузырем, в отличие от пациенток контрольной группы, в 3 раза меньше доля *Lactobacillaceae* и *Bifidobacteriaceae* ($p < 0,001$), но в 3 раза выше процент *E. faecalis*, обнаружены нехарактерные для здоровых женщин представители *Enterobacteriales* – *E. coli* и *K. pneumoniae*. Одинаково часто в двух группах встречались *Staphylococcaceae*, преимущественно, *Staphylococcus epidermidis* (55%), реже – *Staphylococcus aureus* (22%) и *Staphylococcus haemolyticus* (16%). *Streptococcaceae* идентифицированы в моче пациенток с НДНМП в 12,2% изолятов, у здоровых женщин – в 6,7%. Наиболее распространенными представителями рода *Streptococcus* были *Streptococcus anginosus* (46%) и *Streptococcus mitis/oralis* (26%).

В группе больных НДНМП выявлена зависимость между способом опорожнения мочевого пузыря и составом микробиома. Как видно на рисунке 3, уробиом пациентов с сохраненным самостоятельным мочеиспусканием наиболее близок к контрольной группе, хотя и отличается от нее наличием энтеробактерий (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*) и большим содержанием *Enterococcus spp.* В моче пациентов, находящихся на периодической самокатетеризации, меньше доля *Lactobacillaceae* ($p < 0,05$) и больше *Enterobacteriales* ($p < 0,05$). Присутствие значительного количества представителей нормальной микрофлоры, таких как *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, и, в целом, более разнообразный состав отличают микробиом мочи катетеризирующихся пациентов от тех, кто имеет цистостому или постоянный уретральный катетер.

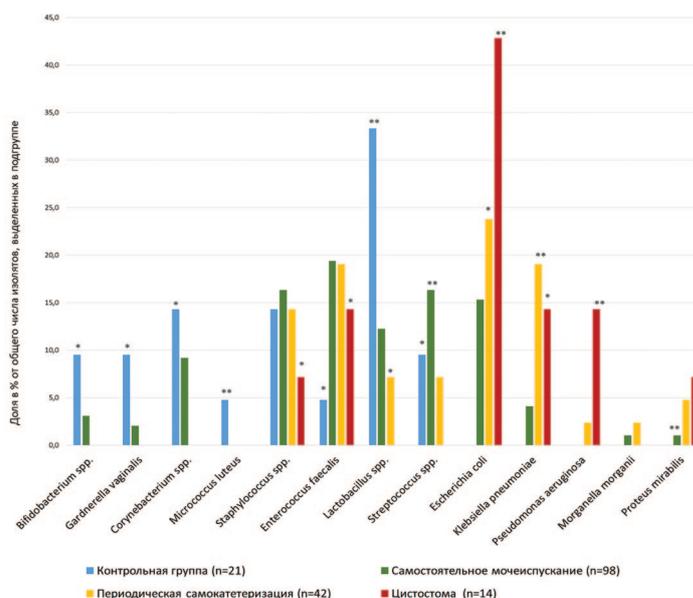


Рис. 3. Состав микробиома мочи больных НДНМП в зависимости от способа опорожнения мочевого пузыря (*различия достоверны для $p < 0,05$, **различия достоверны для $p < 0,001$)
Fig. 3. Composition of the urine microbiome in patients with neurogenic bladder dysfunction depending on the bladder emptying method (*differences are significant for $p < 0,05$, **differences are significant for $p < 0,001$)

Интересные данные получены при анализе количества изолятов, полученных от пациентов основной и контрольной групп, в зависимости от частоты рецидивов ИМП. Так, при посеве мочи лиц с рецидивирующей ИМП, то есть имевших 2 и более эпизода ИМП в течение последних 6-ти месяцев или 3-х и более в течение последнего года, было получено меньшее количество изолятов, чем от тех, кого не беспокоили частые рецидивы ИМП ($1 \pm 0,58$ и $2,25 \pm 1,29$ соответственно; $p=0,001$). При этом различия в среднем числе изолятов между пациентами основной и контрольной групп были статистически незначимы.

Из мочи больных НДНМП, получавших в течение предшествующего года антибактериальную терапию по поводу бессимптомной бактериурии, было выделено меньше изолятов, чем из мочи пациентов, которым такое лечение не назначалось. Пациенты с числом изолятов 2 или менее в течение последнего года проходили антибактериальное лечение по поводу асимптоматической бактериурии в среднем $3,4 \pm 1,2$ раза. Лица, из мочи которых получено более 3 изолятов, принимали антибактериальные препараты в связи с бессимптомной бактериурией только $1,2 \pm 0,5$ раза.

При анализе зависимости характера микробиома мочи от клинической картины НДНМП не было выявлено достоверной корреляции с оценкой по шкале NBSS (The Neurogenic Bladder Symptom Score – Шкала симптомов нейрогенного мочевого пузыря) и уродинамическими параметрами.

Сравнительная чувствительность изолятов *Escherichia coli* ($n=31$), *Enterobacterales* ($n=48$), *Enterococcus faecalis* ($n=29$) и *Staphylococcus spp.* ($n=23$) к антибактериальным препаратам наглядно представлена на рисунке 4.

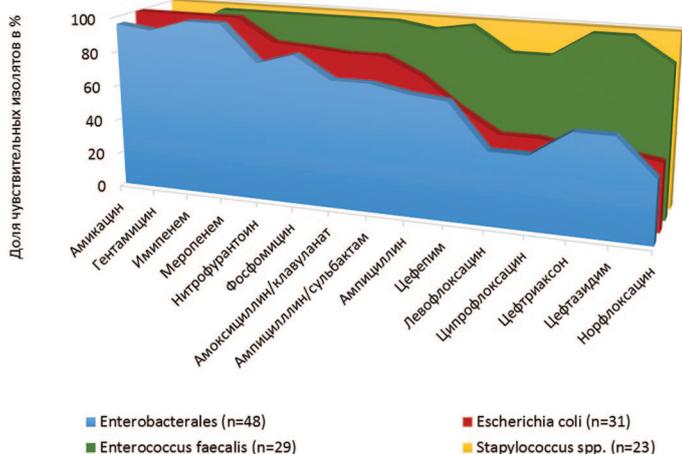


Рис. 4. Сравнительная чувствительность потенциально патогенных бактерий, выявленных в микробиоме мочи больных нейрогенным мочевым пузырем к антибактериальным препаратам

Fig. 4. Comparative antibiotic susceptibility of potentially pathogenic bacteria identified in the urine microbiome of patients with neurogenic bladder

E. coli продемонстрировала высокую чувствительность к аминогликозидам (100%), карбопенемам (100%), нитрофурантоину (87%), фосфомицину (85,7%), а также

пенициллинам (74,2-83,9%). Менее всего выделенные изоляты кишечной палочки были чувствительны к фторхинолонам (38,7-45,2%) и цефалоспорином (41,9-58,1%). Аналогичные тенденции были выявлены для *Enterobacterales* в целом. Их чувствительность к пенициллинам (68,8-79,9%), аминогликозидам (93,4-95,8%) и фторхинолонам (35,5-41,6%) была несколько ниже, чем для отдельно взятой *E. coli*. В то же время микроорганизмы отряда *Enterobacterales* оказались в совокупности менее резистентными к цефалоспорином (56,3-66,7%). Среди фторхинолонов чувствительность *Enterobacterales* к ципро- и левофлоксацину была одинаковой и составила 45,2%, к норфлоксацину — не превысила 35,5%.

Большинство выделенных изолятов *Enterococcus faecalis* имели 100% чувствительность ко всем антибактериальным препаратам, включенным в профиль. На этом фоне у четырех пациентов были выделены изоляты, резистентные одновременно к аминогликозидам и фторхинолонам, но при этом чувствительные к пенициллинам, цефалоспорином, нитрофурантоину и фосфомицину.

Все изоляты *Staphylococcus spp.* были 100% чувствительны ко всем подобранным антибактериальным препаратам.

Результаты исследования образцов мочи методом ПЦР в режиме реального времени

Анализ образцов мочи методом ПЦР показал, что даже расширенное культуральное исследование не позволяет достоверно оценить состояние микробиома мочевого пузыря. Метод ПЦР выявил наличие ДНК микроорганизмов во всех образцах мочи, в том числе не давших роста при посеве.

Общая бактериальная масса равнялась 10^4 - 10^9 . Количество бактериальной массы было расценено как высокое ($\geq 10^7$) в 46,7% образцов, как среднее (10^5 - 10^6) – в 33,3%, низкое ($\leq 10^4$) – в 20%.

Пациенты, в микробиоме которых доля *Enterobacterales* / *Enterococcus spp.* превышала 95%, имели большее количество рецидивов ИМП в течение последних 6 месяцев ($p=0,016$). Коэффициент корреляции Пирсона между числом рецидивов и долей энтеробактериальной флоры в микробиоме равнялся 0,655 ($p=0,008$). Отмечена обратная зависимость между количеством родов микроорганизмов, идентифицированных при ПЦР, и наличием рецидивирующей инфекции мочевыводящих путей ($r=-0,449$, $p=0,093$), однако различия оказались статистически незначимы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Расширенное культуральное исследование образцов мочи (EQUC) позволило нам выявить бактериальный

рост в 72% образцов мочи больных НДНМП и 80% – контрольной группы. Полученный результат соотносится с данными E.E. Hilt и соавт., обнаруживших при EQUС бактериальный рост в 80% образцов мочи, 92% которых были определены как стерильные при культивировании традиционным способом. Авторы исследовали мочу здоровых женщин и пациенток с недержанием мочи. У 40% пациентов обеих групп количество выделенных культуральным методом бактерий было $\geq 10^5$ КОЕ/мл, что, согласно официальному определению, соответствует бессимптомной бактериурии [13].

В литературе нет данных о результатах расширенного культурального исследования мочи у больных НДНМП. J. Tornic и соавт. при анализе результатов посевов мочи 317 пациентов с НДНМП, выполненных традиционным способом, обнаружили бактериальный рост в 61% случаев [9]. J. Levy и соавт. выявили бактерии в моче 55% больных нейрогенным мочевым пузырем [14].

Полученные нами данные расширенного культурального исследования мочи здоровых добровольцев соотносятся с результатами, ранее представленными в отношении уробиомы здоровых мужчин и женщин [7, 10, 15].

Микробиом мочи пациентов НДНМП отличался увеличением доли энтеробактерий. У больных нейрогенным мочевым пузырем *E. coli* составила 20% полученных изолятов. J. Levy и соавт. обнаружили кишечную палочку в 42,5% посевов мочи пациентов с НДНМП [14], J. Tornic и соавт. – в 32% [9]. Более низкая доля *E. coli*, выявленная нами в посевах мочи больных нейрогенным мочевым пузырем, вероятно, связана с большей чувствительностью расширенного культурального метода, позволившего выявить большее количество микроорганизмов, а значит, процент изолятов *E. coli* уменьшился. Так, в исследовании J. Levy и соавт. для 44 положительных посевов мочи получено только 45 изолятов.

Аналогично, *Klebsiella pneumoniae* диагностирована нами в 9% случаев, тогда как, J. Levy и соавт. выявили ее в 7,5% изолятов [14], а J. Tornic и соавт. – в 18% [9].

Существенная часть микробиома мочи больных НДНМП оказалась представлена *Staphylococcus spp.* (15%) и *Streptococcus spp.* (12%), что не отмечено ранее в литературе по данным культуральных исследований, однако соответствует результатам метагеномного секвенирования мочи [8].

При анализе результатов посевов мочи мужчин и женщин с НДНМП выявлены половые различия, связанные с отсутствием в микробиоме мужчин *Lactobacillaceae* и *Bifidobacteriaceae* и более высокой долей *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*. Большой процент изолятов, приходящийся на уропатогенные микроорганизмы, может быть связан с меньшим разнообразием выделенных бактерий. Кроме того, в исследовании все пациенты, имеющие цистостому, были мужского пола. Соответственно, при обобщении данных, мужчины с НДНМП чаще имели в микробиоме *Pseudomonas aerugi-*

nosa, характерную для пациентов с постоянными дренажами. Большая доля *Pseudomonas aeruginosa* в микробиоме больных нейрогенным мочевым пузырем мужчин отмечена D. Fouts и соавт. при секвенировании 16S рРНК мочи [8].

Среднее количество изолятов микроорганизмов, выделенных из мочи пациентов основной и контрольной групп, не имело статистически достоверных различий. Однако моча лиц, не страдающих частыми рецидивами ИМП, отличалась большим видовым разнообразием, давая достоверно большее количество изолятов, чем у пациентов с рецидивирующей ИМП ($p=0,001$). С одной стороны, это может объясняться тем, что больные с рецидивирующей ИМП вынуждены чаще принимать антибактериальные препараты, что приводит к уменьшению видового разнообразия микробиома. С другой стороны, обеднение микробиома может снижать его протективную роль в отношении инфекций мочевыводящих путей у больных НДНМП. Как известно, активное выявление и лечение бессимптомной бактериурии у пациентов с рецидивирующей ИМП ускоряет наступление нового рецидива [4]. В нашем исследовании пациенты, чаще получавшие антибактериальную терапию по поводу бессимптомной бактериурии, имели большую частоту рецидивов симптоматической ИМП и более «бедный» состав микробиома.

Исследование мочи больных НДНМП методом ПЦР в режиме реального времени позволило расширить данные о составе микробиома, выявив ДНК микроорганизмов во всех образцах мочи, в том числе, не давших роста при посеве. Аналогично, в исследовании McDonald и соавт. посев мочи был положительным у 13 из 44 пациентов, при этом ПЦР диагностика позволила идентифицировать микроорганизмы во всех 44 случаях [16].

По результатам ПЦР в моче пациентов с нейрогенной дисфункцией нижних мочевыводящих путей преобладали *Enterobacterales/Enterococcus spp.*, независимо от возраста, пола и способа опорожнения мочевого пузыря. Увеличение доли *Enterobacterales/Enterococcus spp.* более 95% было ассоциировано с большим количеством рецидивов ИМП, что подтверждает данные о протективной роли видового разнообразия микробиома мочи в отношении ИМП.

Проанализирована чувствительность бактерий, выделенных от больных НДНМП, к антибактериальным препаратам, что может быть использовано в клинической практике. Недостатком исследования является отсутствие анализа на «β-лактамазы расширенного спектра» (БЛРС), являющееся одним из важнейших факторов антибиотикорезистентности микроорганизмов.

В литературе практически отсутствуют современные данные о чувствительности возбудителей ИМП у больных нейрогенным мочевым пузырем. D. Zhu и соавт., исследуя факторы риска резистентности *E. coli* к фторхинолонам, отметили что наличие нейрогенных рас-

стройств мочеиспускания увеличивает вероятность резистентности в 8,66 раз [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В микробиоме мочи больных НДНМП преобладают энтеробактерии. Присутствие значительного количества

представителей нормальной микрофлоры, таких как *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, и, в целом, более разнообразный состав отличают микробиом мочи пациентов на интермиттирующей катетеризации от тех, кто имеет цистостому или постоянный уретральный катетер. Видовое разнообразие микробиома ассоциировано с меньшей частотой рецидивов ИМП. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Коршунова Е.С., Хашивский О.И., Шадеркина В.А., Краснополянская И.В., Шадеркин И.А. Ведение пациентов с нейрогенным мочевым пузырем: результаты опроса урологов Российской Федерации. *Экспериментальная и клиническая урология* 2024;17(2):10-25. [Korshunova E.S., Khashchivsky O.I., Shaderkina V.A., Krasnopol'skaya I.V., Shaderkin I.A. Management of patients with neurogenic bladder: results of a survey of urologists of the Russian Federation. *Ekspierimentalnaya i Klinicheskaya Urologiya = Experimental and Clinical Urology* 2024;17(2):10-25. (In Russian)]. <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2024-17-2-10-25>.
2. Siroky MB. Pathogenesis of bacteriuria and infection in the spinal cord injured patient. *Am J Med* 2002;113(Suppl 1A):67S-79S. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(02\)01061-6](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(02)01061-6).
3. Sung BM, Oh DJ, Choi MH, Choi HM. Chronic kidney disease in neurogenic bladder. *Nephrology* 2018;23(3):231-6. <https://doi.org/10.1111/nep.12990>.
4. Rios L, Averbek M, Madersbacher H. *Neurourology: Manual for Clinical Practice*. 2nd ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Urologia 2019.
5. Nelson DE, van der Pol B, Dong Q, Revanna KV, Fan B, Easwaran S, et al. Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *PLoS One* 2010;5(11):e14116. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014116>.
6. Siddiqui H, Nederbragt AJ, Lagesen K, Jeansson SL, Jakobsen KS. Assessing diversity of the female urine microbiota by high throughput sequencing of 16S rDNA amplicons. *BMC Microbiol* 2011;11(1):244. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-244>.
7. Коган М. И., Набока Ю. Л., Ибисhev X. С., Гудима И. А. Нестерильность мочи здорового человека – новая парадигма в медицине. *Урология* 2014;5(5):48-52. [Kogan M. I., Naboka Yu. L., Ibishev H. S., Gudima I. A. Non-sterility of healthy human urine is a new paradigm in medicine. *Urologiya = Urologia* 2014;5(5):48-52. (In Russian)].
8. Fouts DE, Pieper R, Szpakowski S, Pohl H, Knoblich S, Suh MJ, et al. Integrated next-generation sequencing of 16S rDNA and metaproteomics differentiate the healthy urine microbiome from asymptomatic bacteriuria in neuropathic bladder associated with spinal cord injury. *J Transl Med* 2012;10(1):174. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-174>.
9. Tornic J, Wöllner J, Leitner L, Mehnert U, Bachmann LM, Kessler TM. The challenge of asymptomatic bacteriuria and symptomatic urinary tract infections in patients with neurogenic lower urinary tract dysfunction. *J Urol* 2020;203(3):579-84. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000000555>.
10. Набока Ю.Л., Коган М.И., Гудима И.А., Митусова Е.В., Джалагония К.Т., Иванов С.Н. Существует ли взаимосвязь между микробиотой мочи, влагалища и кишечника при инфекции верхних мочевых путей? *Вестник урологии* 2019;7(1):38-45. [Naboka Y.L., Kogan M.I., Gudima I.A., Mitusova E.V., Dzhalogoniya K.T., Ivanov S.N. Is there a relationship between the urine, vagina, and gut microbiota in patients with an infection of the upper urinary tract? *Vestnik urologii = Urology Herald* 2019;7(1):38-45. (In Russian)]. <https://doi.org/10.21886/2308-6424-2019-7-1-38-45>.
11. Wolfe AJ, Brubaker L. Urobiome updates: advances in urinary microbiome research. *Nat Rev Urol* 2019;16(2):73-4. <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0127-5>.
12. Лузанова Е.И., Карпова М.И., Абрамовских О.С., Четвернина Е.А., Куприянов С.В. Микробиота мочевых путей у пациентов с нейрогенной дисфункцией тазовых органов при рассеянном склерозе. *Бюллетень сибирской медицины* 2024;23(2):133-41. [Luzanova E.I., Karpova M.I., Abramovskikh O.S., Chetvernina E.A., Kupriyanov S.V. Urinary tract microbiota in patients with multiple sclerosis and neurogenic pelvic dysfunction. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine* 2024;23(2):133-41. (In Russian)]. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-2-133-141>.
13. Hilt EE, McKinley K, Pearce MM, Rosenfeld AB, Zilliox MJ, et al. Urine is not sterile: Use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. *J Clin Microbiol* 2014;52(3):871-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.02876-13>.
14. Levy J, Le Breton F, Jousse M, Haddad R, Verollet D, Guinet-Lacoste A, Amarenco G. Écologie bactérienne et profils de résistance aux antibiotiques chez les patients avec hyperactivité du détrusor d'origine neurologique, traités par injections de toxine botulique intradétrusorienne. *Prog en Urol* 2014;24(12):744-9. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2014.07.016>.
15. Price TK, Dune T, Hilt EE, Thomas-White KJ, Kliethermes S, Brincat C, et al. The clinical urine culture: Enhanced techniques improve detection of clinically relevant microorganisms. *J Clin Microbiol* 2016;54(5):1216-22. <https://doi.org/10.1128/JCM.00044-16>.
16. McDonald M, Kameh D, Johnson ME, Johansen TEB, Albala D, Mouraviev V. A Head-to-Head Comparative Phase II Study of Standard Urine Culture and Sensitivity Versus DNA Next-generation Sequencing Testing for Urinary Tract Infections. *Rev Urol* 2017;19(4):213. <https://doi.org/10.3909/RIU0780>.
17. Zhu DM, Li QH, Shen Y, Zhang Q. Risk factors for quinolone-resistant *Escherichia coli* infection: A systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control* 2020;9(1):11. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0675-3>.

Сведения об авторах:

Филиппова Е.С. – д.м.н., доцент кафедры урологии, нефрологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; Екатеринбург, Россия; РИНЦ Author ID 1043495, <https://orcid.org/0000-0003-3065-3953>

Баженов И.В. – д.м.н., профессор кафедры урологии, нефрологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; Екатеринбург, Россия; РИНЦ Author ID 778935, <https://orcid.org/0000-0003-1745-700X>

Зырянов А.В. – д.м.н., заведующий кафедрой урологии, нефрологии и трансплантологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; Екатеринбург, Россия; РИНЦ Author ID 328820, <https://orcid.org/0000-0001-8105-7233>

Аmineva П.Г. – врач-бактериолог, заведующая лабораторией в ООО «Квалити Мед»; Екатеринбург, Россия; РИНЦ Author ID 570826, <https://orcid.org/0000-0001-9752-5054>

Вклад авторов:

Филиппова Е.С. – идея и дизайн исследования, обзор литературы, сбор материала, обработка данных, написание текста статьи, 40%

Баженов И.В. – идея исследования, дизайн, сбор материала, редактирование текста статьи, 20%
Зырянов А.В. – дизайн, организация исследования, редактирование текста статьи, 20%
Аmineva П.Г. – микробиологические исследования, ПЦР исследования, написание, редактирование текста статьи, 20%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование выполнено без финансовой поддержки.

Статья поступила: 01.04.2024

Результаты рецензирования: 02.06.24

Исправления получены: 10.07.24

Принята к публикации: 22.07.24

Information about authors:

Philippova E.S. – Dr. Sci., associate professor at Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Yekaterinburg, Russia; RSCI Author ID 1043495, <https://orcid.org/0000-0003-3065-3953>

Bazhenov I.V. – Dr. Sci., professor at Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Yekaterinburg, Russia; RSCI Author ID 778935, <https://orcid.org/0000-0003-1745-700X>

Zyrianov A.V. – Dr. Sci., Head of the department at Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Yekaterinburg, Russia; RSCI Author ID 328820, <https://orcid.org/0000-0001-8105-7233>

Amineva P.G. – bacteriologist, Head of the laboratory at «Quality Med»; Yekaterinburg, Russia; RSCI Author ID 570826, <https://orcid.org/0000-0001-9752-5054>

Authors' contributions:

Philippova E.S. – idea and design development, literature review, collecting material, data analysis, scientific text editing, 40%

Bazhenov I.V. – idea and design development, collecting material, scientific text editing, 20%
Zyrianov A.V. – idea and design development, scientific text editing, 20%
Amineva P.G. – laboratory research, scientific text editing, 20%

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. This study was not supported by any sponsor or funder.

Received: 01.04.2024

Peer review: 02.06.24

Corrections received: 10.07.24

Accepted for publication: 22.07.24