

# БЫСТРЫЙ СКРИНИНГ МОЧИ НА БАКТЕРИУРИЮ У ДЕТЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА, СОВМЕЩАЮЩЕГО В СЕБЕ МЕТОДЫ ФОТОМЕТРИИ И КОГЕРЕНТНОЙ ФЛУКТУАЦИОННОЙ НЕФЕЛОМЕТРИИ

А.С. Гурьев<sup>1,4</sup>, О.Ю. Кузнецова<sup>2</sup>, М.Ф. Пясецкая<sup>3</sup>, И.А. Смирнова<sup>3</sup>, Н.А. Беляева<sup>3</sup>, В.Н. Вербов<sup>2</sup>, А.Ю. Волков<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> Детская городская клиническая больница № 5 им. Н.Ф. Филатова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> ООО «Медтехнопарк», Москва, Россия

**Резюме.** Одним из самых распространенных микробиологических исследований в клинической практике является посев мочи на бактериурию, причем до 80% образцов мочи оказываются отрицательными. В настоящей работе показана применимость метода когерентной флукуационной нефелометрии (КФН) для быстрого скрининга мочи у детей и выявления отрицательных образцов с целью уменьшения нагрузки на микробиологическую лабораторию. Было исследовано 205 образцов детской мочи параллельно при помощи посева и КФН-анализатора. В сравнении с посевом чувствительность метода КФН — 94,5%, специфичность — 85,3%, негативное прогностическое значение — 97,7%, позитивное прогностическое значение — 70,3%. В проведенном исследовании метод КФН позволил выявить 85,3% отрицательных образцов мочи (63,9% всех исследованных образцов) за 4 часа, сохранив 94,5% положительных образцов для дальнейшего посева. При этом ни один образец мочи с обсемененностью  $\geq 10^4$  КОЕ/мл не был пропущен.

**Ключевые слова:** когерентная флукуационная нефелометрия, бактериурия, скрининг, моча, дети, микробиологический анализатор.

## RAPID URINE SCREENING FOR BACTERIURIA IN CHILDREN USING MICROBIOLOGY ANALYZER, COMBINING PHOTOMETRIC AND COHERENT FLUCTUATION NEPHELOMETRIC METHODS

Gur'ev A.S.<sup>a,d</sup>, Kuznetsova O.Yu.<sup>b</sup>, Pyasetskaya M.F.<sup>c</sup>, Smirnova I.A.<sup>c</sup>, Belyaeva N.A.<sup>c</sup>, Verbov V.N.<sup>b</sup>, Volkov A.Yu.<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup> Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

<sup>b</sup> St. Petersburg Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>c</sup> N.F. Filatov Children's City Clinical Hospital No. 5, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>d</sup> Medtechnopark LTD, Moscow, Russian Federation

**Abstract.** One of the most widespread microbiological analyses in clinical practice is urine culture, and up to 80% of urine samples turn out to be negative. In this study we demonstrate applicability of coherent fluctuating nephelometry (CFN)

### Адрес для переписки:

Гурьев Александр Сергеевич  
125315, Москва, ул. Усиевича, 23-81.  
Тел.: 8 985 417-27-70. Факс: 8 (499) 129-47-30.  
E-mail: coherneph@mail.ru

### Contacts:

Alexander S. Gur'ev  
125315, Russian Federation, Moscow, Usievicha str., 23-81.  
Phone: +7 985 417-27-70. Phone/fax: +7 (499) 129-47-30.  
E-mail: coherneph@mail.ru

### Библиографическое описание:

Гурьев А.С., Кузнецова О.Ю., Пясецкая М.Ф., Смирнова И.А., Беляева Н.А., Вербов В.Н., Волков А.Ю. Быстрый скрининг мочи на бактериурию у детей с использованием микробиологического анализатора, совмещающего в себе методы фотометрии и когерентной флукуационной нефелометрии // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 4. С. 395–398. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-395-398

### Citation:

Gur'ev A.S., Kuznetsova O.Yu., Pyasetskaya M.F., Smirnova I.A., Belyaeva N.A., Verbov V.N., Volkov A.Yu. Rapid urine screening for bacteriuria in children using microbiology analyzer, combining photometric and coherent fluctuation nephelometric methods // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 4, pp. 395–398. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-395-398

© Гурьев А.С. и соавт., 2015

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-2016-4-395-398>

method for rapid urine screening and negative samples identification for the purpose of reducing the workload of microbiological laboratory. 205 urine samples were tested by conventional culture method (CCM) and using CFN-analyzer. The agreement between CCM and CFN was 87.8%. Compared to CCM, CFN demonstrated sensitivity — 94.5%, specificity — 85.3%, negative predictive value — 97.7%, positive predictive value — 70.3%. In this study CFN-analyzer allowed to identify 85.3% of negative urine samples (63.9% of all tested samples) within 4 hours, and 94.5% of positive samples were retained for later CCM. Moreover none of samples with count  $\geq 10^4$  CFU/ml was omitted.

**Key words:** coherent fluctuation nephelometry, bacteriuria, screening, urine, children, microbiology analyzer.

## Введение

Инфекции мочевых путей (ИМП) — одни из самых распространенных инфекционных заболеваний в медицинской практике. Среди всех заболеваний инфекционной этиологии у детей ИМП занимают второе место после ОРВИ. Посев мочи на плотную среду является наиболее распространенным методом лабораторной диагностики ИМП. Поскольку при скрининговых исследованиях 70–80% образцов мочи по результатам посева отрицательны, быстрый скрининговый метод, обеспечивающий выявление отрицательных образцов, может значительно сократить временные и материальные затраты на бактериологические посевы [1, 2].

Из-за низкой распространенности автоматизированных микробиологических анализаторов в микробиологической лабораторной практике, разработка надежного, простого, недорогого микробиологического анализатора является актуальной задачей.

В большинстве анализаторов, в основу которых положена регистрация кривой роста микроорганизмов, используется оптический метод фотометрии (например, Vitek 2 [4]). В последние годы в клинической микробиологии все шире начинает применяться оптический метод нефелометрии, обладающий преимуществом в чувствительности перед широко применяемой фотометрией [2]. Используемый в настоящей работе метод когерентной флуктуационной нефелометрии (КФН) имеет ряд преимуществ перед традиционной нефелометрией. Он прост в исполнении, нечувствителен к оптическим засветкам и качеству кювет. КФН позволяет надежно регистрировать бактериальный рост, начиная с концентрации  $10^3$ – $10^4$  КОЕ/мл, и проводить измерение низких мутностей даже при невысоком качестве кювет. Метод КФН применен для скрининга мочи на бактериурию у взрослых людей [1].

Цель данной работы — показать применимость КФН в клинической лабораторной практике для быстрого скрининга мочи на бактериурию у детей путем анализа кривых роста микрофлоры мочи. Задача скрининга — выявление и исключение отрицательных образцов мочи для уменьшения количества посевов в микробиологических лабораториях.

## Материалы и методы

В исследовании использовались 12-канальные анализаторы «КФН-Ф-12» (разработаны и предоставлены ООО «Медтехнопарк»). Анализаторы «КФН-Ф-12» рассчитаны на одновременное измерение мутности в 12-ти кюветах. Для каждой кюветы осуществляется одновременная регистрация флуктуаций интенсивности рассеянного под малым углом света (КФН) и фотометрическая регистрация интенсивности прошедшего света (Ф). Совмещение двух методов позволяет расширить диапазон измеряемых концентраций бактерий до  $10^3$ – $10^9$  КОЕ/мл, при этом КФН обеспечивает измерение низких концентраций бактерий, а фотометрия — высоких. Кюветы в анализаторах подвергаются несимметричному нагреву до 37°C, таким образом, чтобы обеспечить эффективное конвективное перемешивание жидкости в кюветах, необходимое для реализации метода КФН.

В настоящей работе использовались стандартные одноразовые фотометрические полумикрокюветы объемом 1 мл, которые герметично укупоривались одноразовыми ПЭ пробками («LP ITALIANA SPA», Италия).

В ходе работы были исследованы 214 образцов мочи в микробиологической лаборатории детской городской клинической больницы № 5 им. Н.Ф. Филатова (Санкт-Петербург).

При помощи анализатора «КФН-Ф-12» регистрировали кривые роста микрофлоры мочи, при этом анализируемым параметром выступало время задержки микробного роста. Известно [1], что в положительных (по результатам посева) образцах мочи рост будет наблюдаться раньше, а в отрицательных — позже, вследствие чего можно выбрать временной порог, позволяющий выявлять отрицательные образцы мочи, при этом, не идентифицировав ошибочно положительные образцы.

Результаты, полученные на анализаторе, сравнивали с результатами микробиологического посева тех же образцов мочи.

Определить точные численные показатели значимой бактериурии у детей, которые можно было бы применять во всех ситуациях, не представляется возможным; в качестве оценочного критерия истинной бактериурии используется показатель  $\geq 10^4$  КОЕ/мл [3].

**ТАБЛИЦА 1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ (ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ПОСЕВА) ОБРАЗЦОВ ПО ВРЕМЕНИ ЗАДЕРЖКИ МИКРОБНОГО РОСТА (НА АНАЛИЗАТОРЕ «КФН-Ф-12»)**

Распределение образцов мочи по результатам посева	Группы образцов мочи	Распределение образцов мочи по задержке микробного роста на «КФН-Ф-12»	
		T > 4 ч	T ≤ 4 ч
Нет роста — 91 шт.	А	89 (97,8%)	2 (2,2%)
Контаминация — 59 шт.	Б	39 (66,1%)	20 (33,9%)
Сомнительные (10 <sup>3</sup> КОЕ/мл) — 19 шт.	В	3 (15,8%)	16 (84,2%)
Слабоположительные (10 <sup>4</sup> КОЕ/мл) — 22 шт.	Г	0 (0%)	22 (100%)
Сильноположительные (10 <sup>5</sup> КОЕ/мл) — 14 шт.	Д	0 (0%)	14 (100%)
Всего — 205 шт.	А+Б+В+Г+Д	131 (63,9%)	74 (36,1%)
Отрицательные — 150 шт.	А+Б	128 (85,3%)	22 (14,7%)
Положительные (≥ 10 <sup>3</sup> КОЕ/мл) — 55 шт.	В+Г+Д	3 (5,5%)	52 (94,5%)

Для оценки прогностической значимости метода скрининга мочи на анализаторе «КФН-Ф-12» использовали следующие показатели: чувствительность (доля положительных образцов, сохраненных для дальнейшего микробиологического исследования); специфичность (доля выявленных на КФН отрицательных образцов); ППЗ — позитивное прогностическое значение (вероятность того, что образец, положительный по результатам измерения методом КФН, окажется положительным по результатам посева); НПЗ — негативное прогностическое значение (вероятность того, что образец, отрицательный по результатам измерения методом КФН, окажется отрицательным по результатам посева).

В исследовании использовали мочу, собранную не ранее чем за 2 часа до анализа. 5 мл мочи помещали в стерильную пробирку и центрифугировали для осаждения крупных оптических примесей (клетки, слизь, соли), вносящих неспецифическую мутность. Режим центрифугирования (1700g, 60 с) был выбран так, чтобы крупные рассеивающие частицы оседали на дно пробирки, а микроорганизмы оставались в надосадочной жидкости. Затем из пробирок отбирали 0,7 мл надосадка. В первую кювету помещали 0,5 мл надосадка центрифугированной мочи и 0,5 мл сахарного мясоептонного бульона и регистрировали время задержки микробного роста. Во вторую кювету помещали 0,15 мл надосадка мочи и 0,85 мл бульона для оценки ингибирующего действия остаточных АБ или других примесей в моче (если при большем разведении мочи рост микрофлоры фиксируется значительно раньше, то это свидетельствует о наличии АБ или других ингибирующих рост примесей в образце мочи). Обе кюветы помещали в анализатор и регистрировали кривые роста микроорганизмов в течение 5–7 часов.

## Результаты

В 9 из 214 исследованных образцов мочи зарегистрировано ингибирующее действие АБ или других примесей, эти образцы исключены

из статистики. Из оставшихся 205 образцов мочи по результатам микробиологического посева 55 (26,8%) были положительными (14 сильноположительных — 10<sup>5</sup> КОЕ/мл, 22 слабоположительных — 10<sup>4</sup> КОЕ/мл, 19 сомнительных — 10<sup>3</sup> КОЕ/мл) и 150 (73,2%) — отрицательными (59 — вероятная контаминация (< 10<sup>3</sup> КОЕ/мл; ≤ 10<sup>4</sup> КОЕ/мл для лактобактерий), 91 — нет роста). Результаты типирования культур в положительных образцах: *Enterococcus* spp. — 32, колиморфные — 17, *Staphylococcus* spp. — 7, *Corynebacterium* spp. — 6, *Candida* spp. — 2, *Pseudomonas* spp. — 1, *Proteus* spp. — 1.

По результатам регистрации микробного роста на анализаторе «КФН-Ф-12» анализировали параметр задержки роста от момента смешения бульона и надосадка центрифугированной мочи.

Для достижения наилучшей статистической корреляции результатов микробиологического посева и регистрации микробного роста на анализаторе «КФН-Ф-12» было выбрано значение порога времени равное 4 часам. В соответствии с выбранным порогом по результату измерения задержки роста (T) каждой пробы ей присваивали метку «наличие роста» (T ≤ 4 часа) или «отсутствие роста» (T > 4 часа). Результаты микробиологического посева (отрицательный/положительный) сравнивали с результатами измерения задержки микробного роста на анализаторе («наличие роста»/«отсутствие роста») (табл. 1). По результатам сравнения были вычислены прогностические значения метода скрининга мочи на КФН (табл. 2).

**ТАБЛИЦА 2. ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕТОДА СКРИНИНГА МОЧИ НА АНАЛИЗАТОРЕ «КФН-Ф-12»**

Согласие	87,8%
Чувствительность	94,5%
Специфичность	85,3%
ППЗ	70,3%
НПЗ	97,7%
Доля образцов, исключенных из потока материала на посев	63,9%

## Обсуждение

Результаты проведенного исследования демонстрируют применимость анализатора на основе КФН для скрининга мочи на бактериурию у детей. Результаты, полученные при помощи КФН-анализатора и посева, совпадали на 87,8%. При помощи КФН возможно в течение 4 часов выявить и исключить 85,3% отрицательных образцов мочи, сохранив 94,5% положительных образцов для дальнейшего исследования при помощи посева, при этом ни один случай значимой бактериурии (обсемененность  $\geq 10^4$  КОЕ/мл) не пропущен. Из общего количества образцов мочи, поступающих

на посев в микробиологическую лабораторию, метод позволяет изъять 63,9% образцов.

Простой, надежный, многоканальный комбинированный КФН-фотометрический анализатор позволяет значительно снизить количество посевов и получить отрицательный результат в день поступления мочи на исследование, что позволяет уменьшить нагрузку на бактериологическую лабораторию путем исключения отрицательных образцов мочи. Это позволяет сократить трудовые и временные затраты, что имеет значимый экономический эффект, поскольку бактериологическое исследование мочи является одним из самых широко применяемых в рутинной лабораторной практике.

## Список литературы/References

1. Гурьев А.С., Волков А.Ю., Долгушин И.И., Поспелова А.В., Растопов С.Ф., Савочкина А.Ю., Сергиенко В.И. Когерентная флуктуационная нефелометрия — быстрый метод скрининга мочи на микробную обсемененность // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 159, № 1. С. 120–123. [Gur'ev A.S., Volkov A.Yu., Dolgushin I.I., Pospelova A.V., Rastopov S.F., Savochkina A.Yu., Sergienko V.I. Coherent fluctuation nephelometry: a rapid method for urine screening for bacterial contamination. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2015, vol. 159, no. 1, pp. 120–123. (In Russ.)]
2. 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. Т. 1, № 6 (1). С. 85–88. [Kolyasnikova N.M., Tivanova E.V., Timoshina O.Yu., Stankevich D.S., Matosova S.V. Bacteriological urine culture for 4 hours using the method of laser light scattering: a comparison with traditional sowing on petri dishes. *Poliklinika = Polyclinic*, 2015, vol. 1, no. 6 (1), pp. 85–88. (In Russ.)]
3. Эрман М.В. Инфекция мочевой системы // Детская медицина Северо-Запада. 2011. Т. 2. № 1. С. 61–67. [Erman M.V. Infection of urinary tract. *Detskaya meditsina Severo-Zapada = Children's Medicine of North-West*, 2011, vol. 2, no. 1, pp. 61–67. (In Russ.)]
4. Ligozzi M., Bernini C., Bonora M.G., De Fatima M., Zuliani J., Fontana R. Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, vol. 40, no. 5, pp. 1681–1686.

### Авторы:

**Гурьев А.С.**, магистр ф.-м.н., младший научный сотрудник лаборатории медицинских нанотехнологий отдела биофизики ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА РФ; научный сотрудник ООО «Медтехнопарк», Москва, Россия;

**Кузнецова О.Ю.**, магистр биотехнологии, младший научный сотрудник лаборатории нанотехнологий отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Пясецкая М.Ф.**, врач-бактериолог клинико-диагностической лаборатории ДГКБ № 5 им. Н.Ф. Филатова, Санкт-Петербург, Россия;

**Смирнова И.А.**, врач-бактериолог клинико-диагностической лаборатории ДГКБ № 5 им. Н.Ф. Филатова, Санкт-Петербург, Россия;

**Беляева Н.А.**, врач-бактериолог клинико-диагностической лаборатории ДГКБ № 5 им. Н.Ф. Филатова, Санкт-Петербург, Россия;

**Вербов В.Н.**, к.х.н., руководитель отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

**Волков А.Ю.**, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник лаборатории медицинских нанотехнологий отдела биофизики ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА РФ; генеральный директор ООО «Медтехнопарк», Москва, Россия.

### Authors:

**Gur'ev A.S.**, Master (Physics and Mathematics), Researcher, Laboratory of Nanotechnology in Medicine, Department of Biophysics, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine; Researcher, Medtechnopark LTD, Moscow, Russian Federation;

**Kuznetsova O.Yu.**, Master of Science in Biotechnology, Researcher, Laboratory Of Nanotechnology, Department Of New Technology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russia.

**Pyasetzkaya M.F.**, Bacteriologist, Clinical Diagnostic Laboratory, N.F. Filatov Children's City Clinical Hospital No. 5, St. Petersburg, Russian Federation;

**Smirnova I.A.**, Bacteriologist, Clinical Diagnostic Laboratory, N.F. Filatov Children's City Clinical Hospital No. 5, St. Petersburg, Russian Federation;

**Belyaeva N.A.**, Bacteriologist, Clinical Diagnostic Laboratory, N.F. Filatov Children's City Clinical Hospital No. 5, St. Petersburg, Russian Federation;

**Verbov V.N.**, PhD (Chemistry), Head of the Department of New Technology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Volkov A.Yu.**, PhD (Physics and Mathematics), Senior Researcher, Laboratory of Nanotechnology in Medicine, Department of Biophysics, Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine; Director of Medtechnopark LTD, Moscow, Russian Federation.