

11. Wang Z. Contribution of hypoxia inducible factor-1 α to the profibrotic action of angiotensin II in cultured renal medullary interstitial cells / Z. Wang, L. Tang, Q. Zhu, F. Yi, F. Zhang, P.-L. Li, N. Li // *Kidney Int.* – 2011. – V. 79. – P. 300–310.
12. Greijer A. E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis / A. E. Greijer, L. E. Vanderwall // *J. Clin. Pathol.* – 2007. – V. 57. – P. 1009-1014.
13. Schinzela A. Bcl-2 family members: intracellular targeting, membrane-insertion, and changes in subcellular localization / A. Schinzela, T. Kaufmann, C. Bornera // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2004. – 1644. – 95– 105.
14. Schwartz G. J. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents / G. J. Schwartz, D. F. Work // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2009. – V. 4 (11). – P. 1632-1643.
15. Панасенко О. М. Образование свободных радикалов при распаде гидропероксида в присутствии миелопероксидазы или активированных нейтрофилов / О. М. Панасенко, А. В. Чеканов, Ю. Арнольд, В.И. Сергиенко, А. Н. Осипов, Ю. А. // *Биохимия.* – 2005. – Т. 70. – С. 1209-1217.
16. Simonides S. Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats / S. Simonides, M. A. Mulcahey, E. M. Redou [et al] // *J. Clin. Invest.* – 2008. – V. 118(3). – P. 975–983.
17. Oltersdorf T. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumors / T. Oltersdorf // *Nature.* – 2005. – V. 435. P. 677–681.
18. Rice J. A. *Mathematical Statistics and Data Analysis* / Rice J. A. – 2nd edn. – Duxbury Press, 2006. – P. 348-353.
19. Silverstein D. M. Inflammation in chronic kidney disease: role in the progression of renal and cardiovascular disease / D. M. Silverstein // *Pediatr. Nephrol.* – 2009. – V. 24. – P. 1445–1452.
20. Costa E. Inflammation, T-Cell phenotype, and inflammatory cytokines in chronic kidney disease patients under hemodialysis and its relationship to resistance to recombinant human erythropoietin therapy / E. Costa, M. Lima, J. M. Alves [et al] // *J. Clin. Immunol.* – 2008. – V. 28. – P. 268–275.
21. Kriz W. Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases—insights from animal models / W. Kriz, M. Le Hir // *Kidney Int.* – 2007. – V. 67. – P. 404–419.
22. Morigi M. Protein overload-induced NF-kappa B activation in proximal tubular cells requires H₂O₂ through a PKC-dependent pathway / M. Morigi, D. Macconi, C. Zoja [et al] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2002. – V. 13. – P. 1179-1189.
23. Theilig F. Spread of glomerular to tubulointerstitial disease with a focus on proteinuria // *Annals of Anatomy.* – 2010. – V. 192. – P. 125–132.
24. Eckardt K. U. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal disease / K. U. Eckardt, W. M. Bernhardt, A. Weidemann, C. Warnecke, C. Rosenberger, M. S. Wiesener, C. Willam // *Kidney Int. Suppl.* – 2005. – S. 46-51.
25. Fine L. G. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney disease: from hypothesis to novel therapeutics / N. G. Fine, J. T. Norman // *Kidney Int.* – 2008. – V. 74. – P. 867–872.
26. Heymann S. N. Renal parenchymal hypoxia, hypoxia response and the progression of chronic kidney disease / S. N. Heymann, M. Khamaisi, S. Rosen [et al] // *Am. J. Nephrol.* – 2008. – V. 28. – P. 998-1006.

Надійшла до редакції 05.02.2012

Прийнята до друку 06.02.2012

© Лавренчук О.В., Багдасарова І.В., Бабенко О.М., 2012

УДК: 616.61/63-022.7-079.2-08-053.2

ЛАВРЕНЧУК О.В.¹, БАГДАСАРОВА І.В.¹, БАБЕНКО О.М.²

СЕРОТИПИ *E. COLI* ТА БУДОВА ЇЇ КЛІТИННОЇ СТІНКИ У ДІТЕЙ З ХРОНІЧНИМ ТА РЕЦИДИВУЮЧИМ ПІЄЛОНЕФРИТОМ

LAVRENCCHUK O.V.¹, BAGDASAROVA I.V.¹, BABENKO O.M.²

THE COLLIBACILLUS SEROTYPES AND THEIR CELLULAR WALL STRUCTURE FOR CHILDREN WITH CRONIC AND RECCURENCE PYELONEPHRITIS

¹Державна установа “Інститут нефрології Академії медичних наук України”, Київ, Україна;

²Дитяча клінічна лікарня №7, м. Київ, Україна

Ключові слова: пієлонефрит, діти, кишкова паличка, уропатогенність, вірулентність, серотипи, будова клітинної стінки.

Резюме. Основная цель антибактериальной терапии при пиелонефрите (ПН) – полная элиминация микробного возбудителя, гарантирующая выздоровление. Однако в 70% наблюдений отмечается рецидивирование и хронизация ПН, что в большей степени зависит от уропатогенности и вирулентности *E. coli*, доминирующей в моче приблизительно у 80% больных. Изучался спектр микрофлоры, микробная нагрузка и антигенный состав *E. coli* и биохимический состав ее клеточной

Лавренчук Ольга Василівна
тел.: (0 44) 285 36 44

стенки у дітей с хроническим рецидивирующим ПН. Выявленная контаминация в 78% наблюдений, высокое содержание условно патогенной микрофлоры, преобладание энтеротоксигенных серотипов O6, O8, O11, O20, не зависящих от остроты процесса и количественное изменение биохимических элементов клеточной стенки *E. coli.*, являются факторами персистенции и хронизации микробно-воспалительного процесса в почках.

Resume. *The causative agents uropathogenecity and virulence degrees are very important for pyelonephritis (PN) efficient treatment without any consequences. It is known that PN complete recovery and relapse absence is established at 30% of cases. The aim of our study was to evaluate the colibacillus serotypes features and their cellular wall structure for children with different PN forms.*

ВСТУП. Провідною метою лікування дітей з пієлонефритом (ПН) є ліквідація микробно-запального процесу в нирках та сечових шляхах за рахунок елімінації бактеріального збудника, що досягається антибактеріальними препаратами. На жаль тільки в 30% випадків досягається повне одужання та відсутність рецидивів ПН [1, 2, 3]. Так у 70% хворих з рецидивуючим перебігом ПН епізод реінфікування спостерігався через 6 місяців після першого епізоду. За останнє десятиріччя лікування ПН ускладнилось в наслідок значного патоморфозу захворювання. У 2-2.5 рази зросла кількість латентних та безсимптомних форм, рідше досягається повна ремісія та одужання, інтенсивніше відбувається вторинне зморщування нирок зі зниженням їх гомеостатичних функцій. Ці особливості сучасного перебігу ПН у повній мірі відносяться не тільки до вторинних, але і до первинних (не обструктивних) форм. За думкою більшості вчених, у патоморфозі запальних захворювань сечової системи провідна роль належить зміні взаємодії макро- та мікроорганізмів. Тому сучасний підхід до лікування ПН має бути комплексним та індивідуалізованим водночас – з урахуванням не тільки стану імунобіологічної реактивності (чутливості) хворого, але й біоагресивного потенціалу (уропатогенності) інфекційних агентів. Уропатогенність – потенційна здібність бактерій до проникнення в органи сечової системи та викликання патологічного процесу. Здатність бактерій виступати збудниками інфекційно-запальних процесів обумовлюється їх біопротипом – комплексом фенотипічних ознак. При всьому різноманітті відомих факторів уропатогенності різних бактерій думки більшості авторів співпадають у тому, що для збудників ПН характерними патогенними властивостями, окрім їх стійкості до факторів гуморального і клітинного імунітету є адгезивність на уроепітелії, що обумовлена параметрами (неспецифічними та специфічними) характеристики клітинної стінки (молекулярний та антигенний склад та ін.). Асоційована присутність факторів патогенності в біопротипі конкретної бактерії надає їй біоагресивності і підвищує її здатність колонізувати нирки і формувати всі ланки патологічного процесу [4, 5, 6].

Серед збудників ПН, як завжди, домінує кишкова паличка в сечі приблизно у 80% паці-

єнтів. Уропатогенними серотипами *E. coli* вважають O1, O2, O3, O4, O6, O7, O18, O22, O75, O112. O-антиген або ліпід А, сприяє адгезії микробної клітини до уроепітелію, індукує реакцію запалення через систему простагландинів, впливає на гладку мускулатуру сечовидільних шляхів, викликаючи обструкцію, збільшення внутрішньо мискового тиску і розвиток рефлюксу [7, 8]. Цій групі антигенів відводиться провідна роль у формуванні нефросклерозу. Фактори вірулентності (ступінь патогенності) сконцентровані у серотипах O1, O2, O4, O7, O18, O22, O75, O83. Поєднання та ступінь вірулентних ознак генетично детерміноване і різне у уропатогенних штамів, які викликають ПН, цистит і асимптомну бактеріурію [9, 10]. При задовільному перебігу ПН та адекватно підібраній терапії уропатогени елімуються з організму (етап санації), при незадовільному перебігу – продовжують паразитувати в нирках та уротракті (етап персистенції). Велике значення на етапі санації має адгезивний потенціал *E. coli*, що визначається структурними складовими клітинної стінки.

Визначення роду та виду збудника на сучасному етапі є недостатнім, оскільки від біологічних властивостей уроштаму залежить, як характер ушкодження органів сечової системи, ступінь важкості, перебіг так і прогноз захворювання. Все згадане обумовило мету нашого дослідження.

Мета дослідження – дослідити спектр микробиоти, микробне навантаження та антигенний склад кишкової палички у дітей хворих на хронічний пієлонефрит з частим рецидивуючим перебігом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. В нефрологічному відділенні ДКЛ №7 було обстежено 215 дітей (2-17 років) хворих на хронічний ПН. За наявності бактеріальної інфекції всім пацієнтам проведено якісне та кількісне дослідження микробиологічного спектру сечі. Кількісне визначення микробиоти виконувалося за Родоманом. Микробне число визначали по числу колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1 мл досліджуваного зразка або на мазку. Оцінку микробного навантаження проводили згідно відповідних стандартів [11]. Кількісні показники микробного 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).

Поряд з кількісним визначенням мікрофлори здійснювали ідентифікацію мікроорганізмів. Крім візуального та бактеріоскопічного спостереження, у 207 хворих з визначеною кишковою паличкою проводилось серотипування. Серотипування кишкової палички проводили за допомогою реакції аглютинації, використовуючи ешерихіозні сироватки. Техніка реакції полягає в тому, що на поверхню скла мірно наносять краплю сироватки і концентровану суспензію бактерій, після чого їх змішують бактеріологічною петлею. В позитивних випадках, через кілька хвилин після перемішування, у випадку позитивного результату, рідина у краплі стає прозорою і по

краях з'являються пластівці або зерна. При негативному результаті розчин залишається мутним. [12]. У 44 дітей досліджувався біохімічний склад клітинної стінки молекулярно-біохімічними методами молекулярно-біохімічними методами (в одиницях оптичної щільності). За зразок бралися музейні культури *E. coli* з типовими властивостями.

Всі хворі в активній стадії захворювання отримували антибактеріальне лікування за ступінчастою схемою.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження дозволили визначити переважання кишкової палички у дітей з первинним хронічним ПН (51,9%) і умовно патогенної флори (зі збагаченого середовища) – 51,5% у хворих з вторинним ПН (табл. 1).

Таблиця 1

Спектр мікроорганізмів сечі та частота їх виявлення при різних формах хронічного ПН (n/%)

ПН хронічний	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Proteus</i>	<i>Candida</i>	УПФ
первинний n=79	41/51.9	5/6.3	-	6/7.6	27/34.2
вторинний n=136	32/23.5	10/7.4	2/1.5	22/16.2	70/51.5

Часте рецидування хронічного ПН (41.4%), особливо обструктивних форм, незважаючи на антибактеріальну терапію потребувало аналізу мікробного навантаження сечі цієї групи хворих. Незалежно від варіанту ПН істинна бактеріурія спостерігалась в 7.2-7.6% випадків. Контамінаційна бактеріурія визначена в 78% випадків, що свідчило про наявність і персис-

тенцію мікробного збудника в сечі, і розцінювалось як фактор можливого рецидування запального процесу в нирках. Документована УПФ (бактерії - із середовища культивування), в 42.4% та 45.8% випадках обструктивного та, відповідно, не обструктивного ПН також свідчили про персистенцію збудника в сечі, незважаючи на відсутність клінічних проявів (рис. 1).

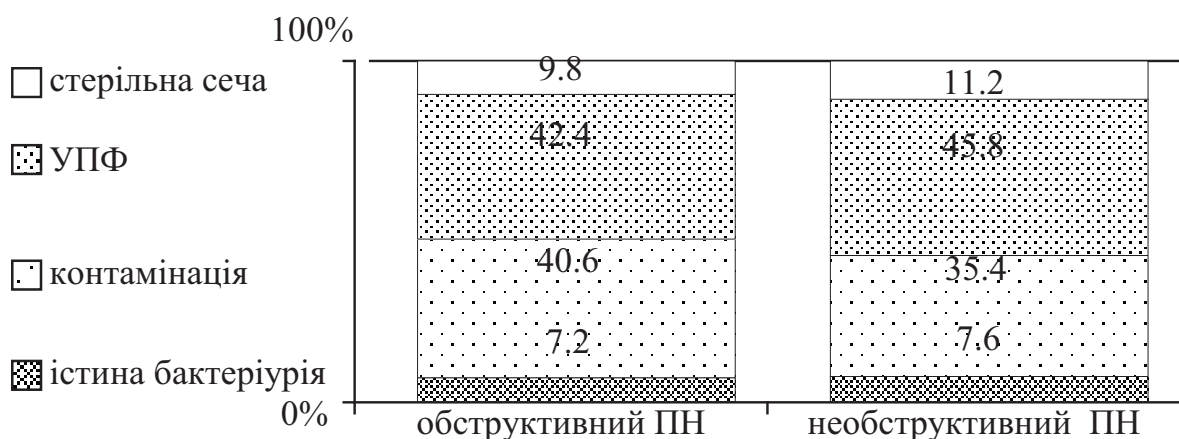


Рис. 1. Мікробне навантаження зразків сечі у дітей з різними варіантами хронічного ПН

Для визначення можливостей рецидивуючого перебігу ПН корисним є комплексний аналіз якісних характеристик *E. coli*, тому що можливість її внутріклітинного паразитування корелює з ступенем активності факторів персистенції і перебігом ПН.

Ми проаналізували кількісний та якісний стан кишкової палички у хворих з частими рецидивами ПН. У 207 хворих з різними формами ПН було проведено серотипування антигенів кишкової палички з метою визначення факторів патогенності її штамів (рис. 2).

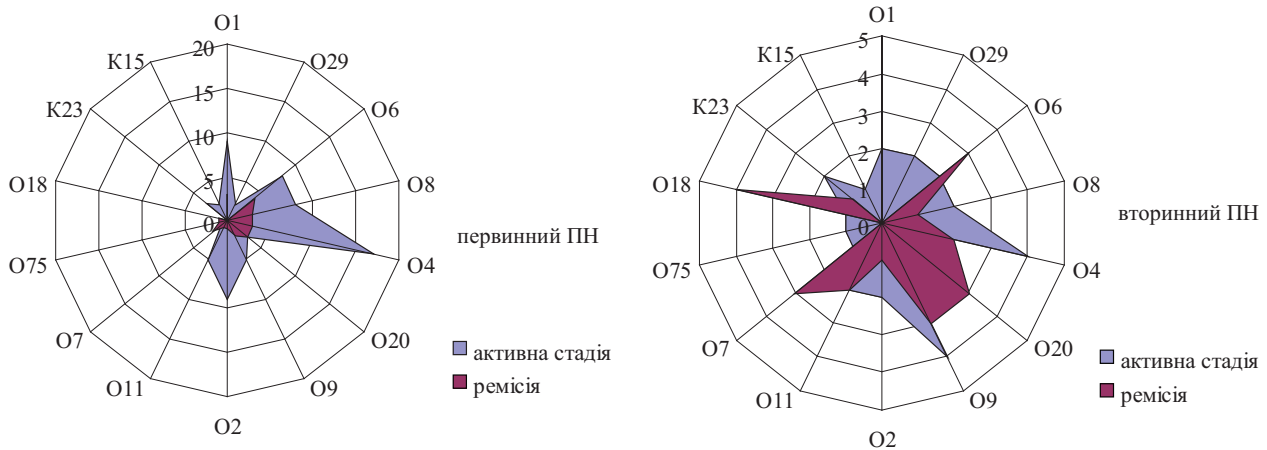


Рис. 2. Розподіл серотипів E.coli при хронічному первинному та вторинному ПН

Найбільший спектр серотипів O-антигену виявлений у дітей з хронічним не обструктивним ПН, в стадії загострення переважали O4 (23.0%), O1 (11.0%), O2 (11.0%) серогрупи. Серовар O4 відноситься до уропатогенного, що викликає інфекцію сечової системи (ІСС) та бактеріємію, тому закономірне зменшення його кількості після лікування до 5,0%. Така ж сама тенденція спостерігалась і по відношенню до капсульного антигену (K-АГ) - K15 та K23 відносяться до бактеріємічних сероварів, тому після лікування в аналізах вони були відсутні.

При хронічному обструктивному ПН в стадії загострення запального процесу і в стадії ремісії не було різниці в кількості та складі серотипів, практично гострота процесу на їх спектр не вплинула. Слід зазначити, що у дітей з хронічним ПН, особливо з обструктивною формою,

переважали ентеротоксигенні серотипи (O6, O8, O11, O20) і кількість їх в стадії ремісії не зменшилась. У дітей з хронічним обструктивним ПН в стадії ремісії в 3.0% випадків з'явилась E.coli з серотипом O18, який відноситься до ентеропатогенних серотипів. Таку персистенцію уропатогенних штамів кишкової палички без клінічних проявів, можливо розцінювати як один з факторів хронізації ПН.

Визначення факторів патогенності кишкової палички є більш надійним діагностичним критерієм ПН, ніж ступінь бактеріурії. Інтегральна оцінка комплексу інформативних фенотипічних характеристик уроізолятів кишкової палички включало кількісне визначення структурних компонентів клітинної стінки E. coli у дітей з різними формами та в різних періодах ПН (табл. 2).

Таблиця 2

Біохімічний склад клітинної стінки E. coli у дітей з ПН

Варіант ПН		Показник				
		пептидо-лікани	фосфоліпіди	ЛПС	мажорні білки	мінорні білки
Гострий не обструктивний ПН, n=11	a	20.0±3.0	14.8±2.0	34.7±0.7	26.7±0.9	15.2±0.9
Гострий обструктивний ПН, n=4	a	20.3±3.0	9.7±1.2	48.3±1.1	26.7±0.1	11.7±4.6
Хронічний не обструктивний ПН, n=17	a	21.9±4.6	15.8±2.0	34.0±0.4	25.4±0.3	16.8±5.8
	б	20.2±1.8	14.6±1.0	39.0±0.9	21.0±0.2	17.2±4.8
Хронічний обструктивний ПН, n=12	a	21.5±0.1	9.2±1.2	43.3±1.1	29.0±0.9	17.0±5.8
	б	19.7±0.9	8.2±1.3	39.5±0.9	24.2±0.9	21.8±0.2
Нормативні показники		20.8±0.1	18.3±0.9	34.6±0.4	18.2±4.8	8.4±1.2

Примітка: до лікування (а), після лікування (б).

Тенденція до зростання кількості ліпополісахаридів (ЛПС) при хронічному ПН, особливо при обструктивних варіантах, в активній стадії запального процесу, можливо, є «надмірною реакцією на суперантигенні властивості окремих антигенів кишкової палички, що дозволяє долати локальні захисні системи макроорганізму» [13], що розцінювалось, як фактор патогенності з високим ступенем вірулентності мікроорганізму.

Зменшення кількості фосфоліпідів і значне збільшення ЛПС, мажорних та мінорних протеїнів свідчить про зміну властивостей клітинної стінки бактерій. Ці зміни призводили до зростання патогенності і персистенції кишкової палички в нирках. Можна припустити, що бактеріальними уропатогенами здатні виступати тільки ті мікроорганізми, що володіють набором змінених властивостей, необхідних для їх фіксації в нирках (етап колонізації) і розвитку ПН. До факторів ризику відносяться наявність визначеного складу рецепторів (антигенний склад), та зміни в клітинній стінці мікроорганізму, що призводять до зниження темпів елімінації мікроорганізму з нирок.

Вивчення на молекулярному рівні збудників ПН спрямовує на додатковий пошук етіологічних факторів розвитку захворювання, розшифровку зв'язку вже відомих факторів ризику захворювання з окремими етапами його патогенезу.

ВИСНОВКИ:

1. Мікробне навантаження сечі представлено умовно патогенною флорою та контамінацією бактерій у дітей є ознакою хронізації гострого ПН та рецидивуючого перебігу хронічного.
2. Визначення серотипів O1, O6, O8, O11, O18, O20 в сечі у дітей свідчить про можливість персистенції та рецидивування ПН.
3. Кількісна зміна біохімічних елементів клітинної стінки *E.coli* свідчить про підвищення її уропатогенних властивостей та перешкоджанню елімінації з макроорганізму.
4. Кількісне та якісне дослідження *E.coli* у дітей з дозволить спрогнозувати обсяг терапевтичного втручання для запобігання рецидивуючого перебігу ПН у дітей.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Майданник В. Г. Критерии диагностики и антибактериальная терапия пиелонефрита у детей / В. Г. Майданник, В. Г. Бурлай, Ю. Ю. Кампи // *Клин. антибиотикотерапия*. – 2003. – № 4. – С. 19-21.
2. Warren J. W. Clinical presentations and epidemiology of urinary tract infections / J. W. Warren // *Urinary tract infection: Molecular pathogenesis and clinical management*. – Washington : ASM Press. – 1996. – P. 3-27.
3. Страчунский Л. С. Практические рекомендации по антибактериальной терапии инфекций мочевой системы внебольничного происхождения у детей / Л. С. Страчунский, Н. А.Коровина // *Пособие для врачей*. – М. : 2002.
4. Гриценко В.А. Механизмы уропатогенности бактерий / В. А. Гриценко, Д. Г. Дерябин, Ю.А.Брудастов, О.В.Бухарин//*Микробиология*. – 1998. – № 6. – С. 93-98.
5. Miyata H. Production and characterisation of monoclonal antibodies against pyelonephritis-associated P-pili of *Escherichia coli* / Miyata H. [et al] // *Pediatr. Nephrol.* – 1994. – V. 8. – P. 270-274.
6. Orskov F. *Escherichia coli* serotyping and disease in man and animals / F. Orskov, I. Orskov // *J. Microbiology*. – 1992. – V. 38. – P. 699-704.
7. Сергеева Т. В. Инфекция мочевыводящих путей у детей / Т. В. Сергеева, О. В. Комарова // *Вопр. совр. педиатрии*. – 2002. – № 1 (4). – С. 49-53.
8. Захарова И. Н. Антибактериальная терапия пиелонефрита / И. Н. Захарова, Н. А. Коровина, И. Е. Данилова, Э. Б. Мумладзе // *В мире лекарств*. – 1999. – № 3. – С. 35-41.
9. Bakkaloglu A. Comparison of ceftriaxon versus cefotaxim for childhood upper urinary tract infections / A. Bakkaloglu, U. Saatci, O. Soylemezoglu [et al.] // *J. Chemotherapy*. – 1996. – V. 8 (1). – P. 59-62.
10. Bloomfield P. Antibiotics for acute pyelonephritis in children / P. Bloomfield, E. M. Hodson, J. C. Craig // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2005. – 1. – CD 003772. Pub. 2. – DOI: 10.1002/14651858.
11. Медведев В. В. Клиническая лабораторная диагностика: справочник для врачей / В. В. Медведев, Ю. З. Волчек // *Справочник для врачей*. – 1997. – С.-Пб. : Гиппократ. – С. 135-140.
12. *Медицинская микробиология: учеб.* / под.ред. В.И. Покровского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – С.27-29.
13. Супотницкий М. В. Микроорганизмы, токсины и эпидемии / М. В. Супотницкий. – М. – 2009. – 376 с.

Надійшла до редакції 01.02.2012

Прийнята до друку 06.02.2012