

## БИОХИМИЯ

УДК 616.633.1:577.152.351 -07:616.637

### **УРОВЕНЬ УРЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ МОЧИ КАК СКРИНИНГОВЫЙ ТЕСТ ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИУРИИ** **М.А. Горшкова<sup>1,2</sup>, Г.П. Лапина<sup>1</sup>, А.Н.Панкрушина<sup>1</sup>, Е.Н. Егорова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Тверской государственной университет

<sup>2</sup>Тверская ГМА Минздрава России

Представлены результаты определений уровня уреазной активности и количества бактерий в моче, выполненных для оценки надежности и прогностической ценности данного биохимического анализа в качестве скринингового теста для выявления бактериурии у людей.

**Ключевые слова:** *уреаза, моча, бактериурия.*

**Введение.** Определение бактериурии имеет большое значение при диагностике инфекционных заболеваний почек и мочевыводящих путей, а также, как это было показано в исследованиях последних лет, при выявлении риска развития мочекаменной болезни [1; 4]. Выявление бактериурии в клинико-диагностических лабораториях традиционно проводится путем исследования с помощью тест-полосок (реактивная зона «нитриты»), микроскопии осадка при выполнении общего анализа мочи и бактериологическим методом [5]. С помощью тест-полосок можно определить бактериурию в количестве 7 lg колониеобразующих единиц на миллилитр мочи (lgКОЕ/мл) и более. Микроскопия осадка мочи даёт возможность оценить уровень бактериурии полуколичественным способом от слабо (+) до резко выраженной (4+). Повышенное количество бактерий в осадке (более 2+) является показанием для продолжения диагностического поиска с помощью бактериологического исследования мочи с определением концентрации бактерий, выделением и идентификацией чистых культур. Учитывая субъективность результатов микроскопического метода в целом, и при исследовании мочи, в частности, приходится признать, что его ценность как скринингового теста бактериурии для последующего её подтверждения бактериологическим методом является неудовлетворительной. В связи с этим представляет интерес возможность использования биохимического метода, позволяющего провести первичный отбор проб мочи для последующего проведения бактериологического метода, который является достаточно трудоёмким и дорогостоящим, поэтому должен выполняться обоснованно.

Цель – оценить надежность и прогностическую ценность определения уровня уреазной активности мочи в качестве

скринингового теста для выявления бактериурии и последующего её подтверждения бактериологическим методом.

**Материал и методика.** Проведено исследование проб мочи 58 человек (24 мужчин и 34 женщин, в возрасте в среднем  $46,4 \pm 2,9$  лет и  $43,9 \pm 3,2$  лет соответственно), проходивших периодический медицинский осмотр в поликлинике ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России (гл. врач – доц. Е.Е. Пичуев). У всех обследованных лиц получено письменное информированное согласие об участии в данном исследовании. Во всех пробах мочи определяли уровни уреазной активности с помощью биохимического метода [2] и бактериурии бактериологическим методом [5]. Методика определения уровня уреазной активности мочи основана на том, что при добавлении к пробе мочи 10%-ного водного раствора хлорида кальция ( $\text{CaCl}_2$ ) образуется стабильная суспензия – нерастворимый осадок солей, присутствующих в моче пациентов с высоким риском развития почечной патологии, после термостатирования проб при наличии уреазообразующих бактерий оптическая плотность суспензии увеличивается. Известно [6], что в норме помутнения смеси не наблюдается. Разная интенсивность мутности суспензии до термостатирования свидетельствует о степени активности процесса кристаллообразования, которую можно выразить в численном эквиваленте, а после термостатирования в течение 1 часа при температуре  $37^\circ\text{C}$  – об уреазной активности мочи. Для проведения скрининговых исследований взаимодействие мочи с 10 %-ным водным раствором  $\text{CaCl}_2$  выполняли в 96-луночном микропланшете для иммуноферментного анализа, оптическую плотность содержимого лунок определяли с помощью микропланшетного мультидетектора Zenyth 1100 (Anthos, Австрия). Таким образом, на одном микропланшете можно одновременно исследовать до 46 проб мочи пациентов. Референтный интервал уровня уреазы в моче составил 107,1 – 171,7 Ед/дл, статистически значимых различий в зависимости от пола установлено не было.

Посев мочи выполняли с помощью тест-системы «ДипСтрик» («DipStreak», NOVAMED Ltd., Израиль) – устройства для количественного бактериологического экспресс-анализа мочи, обеспечивающего количественный учет и идентификацию уропатогенных бактерий в моче. Уровень бактериурии определяли по плотности расположения микробных колоний согласно инструкции к «ДипСтрик». Диапазон определяемых уровней бактериурии составлял от 2 до 7 lg КОЕ/мл мочи. Диагностически значимыми уровнями бактериурии считали их концентрацию 3 lg КОЕ/мл для мужчин и 4 lg КОЕ/мл для женщин [10]. Для идентификации выделенных бактерий в первичном посеве на «ДипСтрик» используется хромогенная среда –

Uriselect 3 и MacConkey, учет проводился согласно инструкции к тест-системе. Подтверждение родовой и видовой принадлежности выделенных чистых культур микроорганизмов выполнялось по комплексу морфологических, тинкториальных, биохимических и антигенных свойств [7]. Определение наличия *Ureaplasma urealyticum* Shepard et al. в осадке мочи проводилась с помощью полимеразной цепной реакции с применением тест-системы «АмплиСенс® *S. trachomatis/ Ureaplasma/M. hominis*-МУЛЬТИПРАЙМ-FL».

Для статистической обработки полученных данных использовали компьютерную программу Microsoft Excel 2010. Данные представлены в виде среднего арифметического, вариабельность распределения – стандартной ошибки среднего. Выявленные различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Проведенное исследование показало, что повышенный уровень уреазы в моче определялся у 25 (43%) обследованных лиц и составил в среднем  $289,8 \pm 29,6$  Ед/дл. Из них у 16 человек была определена диагностически значимая бактериурия, у 9 – таковая отсутствовала. При этом выявлено статистически значимое различие в значениях уреазной активности мочи в этих группах, которые составили  $351,9 \pm 36,4$  Ед/дл и  $179,3 \pm 22,3$  Ед/дл соответственно ( $p < 0,005$ ).

Среди всех обследованных диагностически значимая бактериурия была выявлена в 30 (52%) образцах мочи. Уровни бактериурии составили от 3 до 7 lg КОЕ/мл, в среднем  $4,7 \pm 0,67$  lg КОЕ/мл.

Монокультуры бактерий были выделены в 34 пробах мочи (59%). Они были идентифицированы как *Escherichia coli* Migula (17 штаммов или 29%), *Staphylococcus* sp. (4 штамма или 7%), *Enterococcus faecalis* (2 штамма или 3%).

Смешанные культуры бактерий, включающие два вида микроорганизмов, были выделены из 24 образцов мочи (41%). Помимо указанных выше бактерий были идентифицированы *Proteus* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp., *Streptococcus haemolyticus*.

Наличие *Ureaplasma urealyticum* Shepard et al. было выявлено в 24 пробах (41%). При этом как единственный уропатоген данный микроорганизм идентифицирован у 11 человек (46%). В остальных пробах *U. urealyticum* ассоциировалась с *E. coli* и *Staphylococcus* sp. зарегистрирована соответственно в 8 (33%) и 5 (21%) пробах.

Сопоставление результатов определения уровня уреазы в моче и результатов бактериологического исследования образцов позволило оценить надежность и прогностическую ценность данного

биохимического показателя в качестве скринингового теста бактериурии.

Расчет показателей надежности показал следующие уровни: чувствительность теста – 53% и специфичность – 68%. Прогностическая значимость положительного и отрицательного результата на уреазу в моче для выявления бактериурии составила соответственно 64 и 57%.

В связи с различными этиологией инфекций данной области [1; 10] и химическим составом конкрементов [8; 11] предлагаемый в качестве скринингового теста для выявления бактериурии биохимический анализ мочи имеет определенные ограничения, которые основаны на том, что не все уропатогены обладают уреазной активностью. Так, уреазу продуцируют большинство штаммов *U. urealyticum*, *Staphylococcus* sp., *Proteus* sp., *Klebsiella* sp. По результатам различных исследований данные уропатогены выделяются от 40 до 60% случаев [1; 8]. У большинства же штаммов *E. coli*, *Enterococcus* sp. уреазная активность как правило отсутствует. Данное обстоятельство объясняет и полученные результаты надежности и прогностической ценности определения уровня бактериурии с использованием выявления уреазы в моче в качестве скрининг-теста.

Учитывая частоту выявления конкрементов различного химического состава, а именно уратных, фосфатных, оксалатных и смешанного состава примерно 30, 25, 20 и 25% соответственно [4; 9], предлагаемый тест позволит оценить риск развития оксалатных, фосфатных и смешанных камней, то есть до 70 % случаев заболевания. Такое заключение может быть сделано на основании обнаруженного факта участия уреазопродуцирующей микробиоты мочи именно в процессе образования фосфатных камней [11]. Количество оксалатных конкрементов может быть оценено с помощью теста на кристаллообразующую активность мочи, которая согласно собственной методике определяется одновременно с уреазной активностью мочи [3].

**Заключение.** Таким образом, биохимическое определение уровня уреазной активности мочи в качестве скринингового теста бактериурии может быть использовано для лабораторного подтверждения инфекционных заболеваний почек и мочевыводящих путей, вызванных уреазопродуцирующими микроорганизмами и определения степени риска развития большинства случаев мочекаменной болезни, развившейся в результате формирования фосфатных, оксалатных и конкрементов смешанного состава.

### Список литературы

1. *Архипов Е.В.* Клинико-патогенетическая роль структурно-функциональной дестабилизации цитомембран в прогрессировании

- пиелонефрита: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Уфа, 2009. 22 с.
2. Горшкова М.А., Лапина Г.П., Панкрушина А.Н. Экспресс-метод количественного определения суммарной кристаллообразующей и уреазной активности мочи с целью применения в скрининговых обследованиях для выявления мочекаменной болезни // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. № 9. С. 23–24.
  3. Горшкова М.А., Лапина Г.П., Панкрушина А.Н. Одновременное определение кристаллообразующей способности и уреазной активности мочи для выявления процессов в мочевыводящей системе // Вестн. Твер. гос. ун-та. Сер. Биология и экология. 2012. Вып. 28, № 25. С. 133–140.
  4. Кондакова В.В. Клинико-лабораторные критерии тяжести течения мочекаменной болезни: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. 24 с.
  5. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: справочник. В 2-х т. / под ред. А.И. Карпищенко. СПб: Интермедика, 2002. Т. 1. 408 с. Т. 2. 600 с.
  6. Меркушева Н.В., Юшина Л.В., Махонина И.А. Уреазная активность мочи у больных мочекаменной болезнью // Урология и нефрология. 1997. № 4. С. 13–14.
  7. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. / под ред. Дж. Хоулта и др. М.: Мир, 1997. Т. 1. 432 с. Т. 2. 368 с.
  8. Румянцев А.А. Современные методы диагностики и лечения мочекаменной болезни у детей: дис. ... канд. мед. наук. М., 2004. 194 с.
  9. Саакян А.А. Роль агрегатометрии в диагностике мочекаменной болезни: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2011. 25 с.
  10. Шуляк Б.Ф., Белокрысенко С.С. Лабораторная диагностика бактериальных инфекций мочевыводящих путей // Справочник заведующего КДЛ. 2010. №3. С.39–47.
  11. Эгамбердиев Д.К. Роль инфекции мочевых путей в генезе камней почек: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2013. 28 с.

## UREASE ACTIVITY OF URINE AS SCREENING TEST OF BACTERIURIA

**M.A. Gorshkova<sup>1,2</sup>, G.P.Lapina<sup>1</sup>, A.N. Pankrushina<sup>1</sup>, E.N. Egorova<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Tver State University

<sup>2</sup>Tver State Medical Academy

Results of detection of a urease activity level and a quantity of bacteria in urine by the bacteriological method, executed for an assessment of reliability and predictive value of this biochemical analysis as screening test for bacteriuria identification at people are presented.

**Keywords:** *urease, urine, bacteriuria.*

*Об авторах:*

ГОРШКОВА Марина Анатольевна—врач высшей категории, заведующая клинико-диагностической лаборатории поликлиники, ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздрава России», 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, e-mail: marigor@tvcom.ru

ЛАПИНА Галина Петровна—доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой физико-химической экспертизы биоорганических соединений, ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: Galina.Lapina@tversu.ru

ПАНКРУШИНА Алла Николаевна—доктор биологических наук, профессор кафедры биологии, ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: alla.pankrushina@mail.ru

ЕГОРОВА Елена Николаевна—кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ГБОУ ВПО «Тверская ГМА Минздрава России», 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, e-mail: enegor@mail.ru