

© 2020 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 21.06.2019
Принята к печати 28.10.2019

DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-54-60

Факторы бактериурии у детей и молодых пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

А.Б. Чухловин, А.А. Спиридонова, М.Д. Владовская, И.В. Казанцев, А.В. Козлов, А.Г. Геворгян, Т.А. Быкова, Л.С. Зубаровская, **Б.В. Афанасьев**

Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Наличие бактериурии и состав микробиоты в моче являются важными показателями иммунокомпрометированных состояний. Эти параметры недостаточно изучены у пациентов при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Цель настоящей работы: провести анализ частоты высеваемости культивируемой аэробной микрофлоры в образцах мочи до ТГСК и на протяжении 4 мес после нее. Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Проведен анализ результатов бактериальных посевов из 734 образцов мочи, взятых у 50 пациентов с онкогематологическими и врожденными заболеваниями в возрасте от 1 до 21 года, получивших аллогенную ТГСК. Анализ проводили в 3 возрастных группах: 1–5 лет, 6–14 лет и 15–21 год. Бактериальные культуры были положительными в 37,6% посевов мочи. Чаще всего выявляли следующие микроорганизмы: *K. pneumoniae* – 95/734 (12,9%); *E. faecalis* – 90/734 (12,3%); *E. coli* – 65/734 (8,9%); *E. faecium* – 50/734 (6,8%). Установлено, что частота высеваемости *K. pneumoniae* и *E. coli* в исследованных образцах различалась по возрастным группам. Так, частота позитивных культур была значительно выше в группе детей до 5 лет. При анализе временной динамики микробиоты мочи было показано значительное снижение высеваемости *K. pneumoniae* и *E. coli* в ранние сроки (1-й месяц) после проведения кондиционирования в миелоаблативном режиме. Это можно объяснить эффективной антибактериальной профилактикой в период кондиционирования и ранние сроки после ТГСК. Показана повышенная высеваемость *K. pneumoniae* и *E. coli* в моче после ТГСК у пациентов младшего возраста (до 5 лет) по сравнению со старшими возрастными группами, существенный рост наблюдался через 2–3 мес после ТГСК, что может являться показателем резистентности данных штаммов к антибиотикотерапии, а также фактором риска инфекционной патологии других органов. Показано также достоверное повышение высеваемости *K. pneumoniae* и *E. coli* при использовании миелоаблативного режима кондиционирующей терапии, предшествующей ТГСК. Иммунотоксические эффекты цитостатической терапии при ТГСК заслуживают дальнейшего изучения, в том числе анализа биоразнообразия мочевой микробиоты с помощью ДНК-секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS). Полученные результаты могут служить обоснованием для рациональной антибактериальной терапии при проведении ТГСК.

Ключевые слова: онкогематология, дети, химиотерапия, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, бактериальные культуры, бактериурия, факторы риска

Чухловин А.Б. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2020; 19 (2): 54–60
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-54-60.

Factors of bacteriuria in children and young adults following hematopoietic stem cell transplantation

A.B. Chukhlovina, A.A. Spiridonova, M.D. Vladovskaya, I.V. Kazantsev, A.V. Kozlov, A.G. Gevorgyan, T.A. Bykova, L.S. Zubarovskaya, **B.V. Afanasyev**

R.M. Gorbacheva Memorial Institute of Children Oncology, Haematology and Transplantation, I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg

Presence of bacteriuria and urinary microbiota composition is an important index of immunocompromised conditions. These parameters are scarcely studied in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). The aim of this work was to evaluate detection rates of cultured aerobic microbiota from urine samples taken by clinical indications before HSCT and within 4 months after the treatment. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the I.P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. We evaluated results of bacterial cultures from 734 urine specimens taken in 50 patients with oncohematological and inborn diseases at the age ranging from 1 to 21 years who were subjected to allogeneic HSCT. The analysis was performed for 3 age groups: 1–5, 6–14, and 15–21 years old. The bacterial cultures proved to be positive with 37.6% of urine samples. The following microbes were revealed at highest rates: *K. pneumoniae*, 95/734 (12.9%); *E. faecalis*, 90/734 (12.3%); *E. coli*, 65/734 (8.9%); *E. faecium*, 50/734 (6.8%). The bacteriuria rates have shown distinct time dependence, with significantly decreased *K. pneumoniae* and *E. coli* detection at earliest terms (1st month) after myeloablative conditioning, which could be explained by effective antibacterial prophylaxis over the time of conditioning and in early posttransplant period. We have shown that the frequency of positive tests for *K. pneumoniae* и *E. coli* in these samples were different for distinct age groups, i.e., the positivity rates were significantly higher in youngest children (up to 5 years old) as compared with older age groups, being sufficiently increased 2–3 months after HSCT which may be an index of antibiotic resistance as well as a risk factor for infectious complications of other organs. We have also shown a highly significant increase in *K. pneumoniae* и *E. coli* positivity rates when using myeloablative conditioning regimen before HSCT. The immunotoxic effects of cytostatic therapy in HSCT deserve further studies, including biodiversity analysis of urinary microbiota by means of new-generation DNA sequencing. These results may serve as a basis for rational antibacterial therapy in HSCT.

Key words: oncohematology, children, chemotherapy, hematopoietic stem cell transplantation, bacterial cultures, bacteriuria, risk factors

Chukhlovina A.B., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2020; 19 (2): 54–60
DOI: 10.24287/1726-1708-2020-19-2-54-60.

© 2020 by «D. Rogachev NMRCPOI»

Received 21.06.2019
Accepted 28.10.2019

Correspondence:
Alexey B. Chukhlovina,
Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head,
Laboratory of Transplantation,
R.M. Gorbacheva Memorial Research
Institute of Children Oncology,
Haematology and Transplantation,
I.P. Pavlov First Saint Petersburg
State Medical University.
Address: Russia, 197022 St. Petersburg,
Lev Tolstoy st., 6–8
E-mail: alexei.chukh@mail.ru

Как известно, нормальная микрофлора слизистых оболочек, определяемая путем стандартных бактериологических культур, содержит ряд основных видов бактерий, главным образом сапрофитные и оппортунистические микроорганизмы. В частности, состав микрофлоры мочевых путей изучен давно, в том числе и его возрастные изменения. В раннем детском возрасте моча является стерильной, и колонизация мочевого тракта бактериями происходит в течение первых лет жизни [1]. Асимптоматическая бактериурия у здоровых детей встречается нечасто – до 2,7% популяции, тогда как у взрослых частота выявления несколько возрастает, особенно у женщин старше 50 лет и пациентов с рядом хронических заболеваний [2]. Основные методы и особенности бактериологической диагностики мочевых инфекций у детей обсуждались ранее [3].

Лишь небольшое число работ посвящено изменениям частоты и спектра микроорганизмов в различном биологическом материале у иммунокомпрометированных пациентов после интенсивной химиолучевой (кондиционирующей) терапии с последующей трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). При этом в течение первых 2–3 нед после ТГСК развиваются глубокая нейтро- и лимфопения, на их фоне активируются эндогенные вирусы, а также оппортунистическая бактериальная флора, которая может колонизировать слизистые оболочки, а также размножаться в кишечнике, вытесняя обычную микрофлору, что ведет к состояниям локального дисбактериоза [4]. Бактериальные инфекции мочевого тракта, вызванные нозокомиальными патогенами, могут также выявляться у трансплантационных больных. Так, по данным С. Marena et al. [5], при наблюдении за 143 пациентами после ТГСК примерно в четверти случаев выявлены нозокомиальные бактериальные инфекции, причем наиболее частыми инфекционными осложнениями являлись септицемии (43%) и патология органов дыхания (28,5%), тогда как микробные инфекции мочевой системы составили 6%.

За последние 2 десятилетия технология ТГСК претерпела существенные изменения. В частности, все чаще используются кондиционирующие режимы со сниженной токсичностью, изменились подходы к противомикробной профилактике и эмпирической терапии, появились новые поколения антибиотиков, поменялись технологии клеточного процессинга и т. д. При этом, однако, сохраняются основные факторы развития инфекционных осложнений, а именно – массивная химиолучевая терапия с активацией эндогенной микрофлоры, глубокая нейтро- и лимфопения в первый месяц после ТГСК. Поэтому

в большинстве медицинских центров применяется эмпирическая антибиотикотерапия в ранние сроки после ТГСК [6, 7].

Тем не менее бактериальные инфекции возникают у многих пациентов в течение первых 100 дней после ТГСК. В большинстве онкогематологических клиник бактериальные посевы назначаются по клиническим показаниям, например при развитии фебрильной нейтропении или локальных воспалительных процессов. Вопрос о необходимости применения регулярной микробной диагностики (например, бактериологический контроль пациентов по микрофлоре носоглотки) поставлен давно [8, 9]. По данным E. Czirók et al. [8] и S.T. Sijmoki et al. [9], регулярные контрольные бактериальные культуры нецелесообразны с точки зрения выявляемости инфекций и по экономическим соображениям.

Поэтому исследования бактериальной микрофлоры после ТГСК обычно носят эпидемиологический характер, основаны на результатах, полученных от пациентов с клиническими признаками инфекционных состояний, касаются общей частоты отдельных видов патогенных микроорганизмов, в особенности антибиотикорезистентных штаммов, у больных после ТГСК и возможной связи персистирующих микробных видов с тяжелыми клиническими осложнениями. В отечественной литературе имеются лишь несколько исследований культивируемой микрофлоры у реципиентов детского возраста при ТГСК [10–12]. При этом главное внимание уделялось изучению патогенных штаммов, их токсинов и антибиотикорезистентности, например, при исследовании свойств *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas spp.* или *Klebsiella spp.*

Цель работы: провести анализ частоты высеваемости культивируемой аэробной микрофлоры в образцах мочи до ТГСК и на протяжении 4 мес после нее.

В результате установлены различия в высеваемости отдельных видов микроорганизмов в ранние и более поздние сроки после ТГСК. Показана повышенная высеваемость *K. pneumoniae* и *E. coli* в моче после ТГСК у пациентов младшего возраста (до 5 лет), а также зависимость обсеменения мочевых путей от интенсивности кондиционирующей химиотерапии, предшествующей ТГСК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБОУ ВО «СПбГМУ им. И.П. Павлова» Минздрава России. В наше исслед-

дование были включены 50 больных в возрасте от 1 до 21 года (34 пациента мужского пола и 16 – женского), получивших аллогенную ТГСК (алло-ТГСК) на базе НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой в период 2016–2017 гг. Алло-ТГСК больным проводили по поводу острого миелобластного лейкоза ($n = 14$), острого лимфобластного лейкоза ($n = 13$), ювенильного миеломоноцитарного лейкоза ($n = 2$) и хронического миелоидного лейкоза ($n = 2$). Тяжелая апластическая анемия наблюдалась у 7 пациентов, врожденные генетические заболевания – у 8 детей, нейробластома – у 1 больного и лимфома Ходжкина – у 1 пациента. Кондиционирующую терапию проводили в миелоаблативном режиме 33 пациентам и в 17 случаях – по немиелоаблативным протоколам. В качестве источника стволовых клеток костный мозг использовали в 38 случаях, периферические стволовые клетки – у 12 пациентов.

ТГСК проводили от родственных HLA-совместимых ($n = 8$), родственных гаплоидентичных ($n = 17$) или неродственных HLA-совместимых ($n = 25$) доноров. Пациенты или их родственники подписывали информированное согласие на участие и использование их медицинских сведений в научных исследованиях.

Нами проведен анализ результатов бактериальных посевов из 734 образцов мочи, полученных от 50 пациентов, включенных в исследование. Все пациенты получали режим антибиотикопрофилактики, предусматривающий внутривенное введение фторхинолонов (при возможности переход на пероральный прием) с Д+1 до Д+60. С Д+60 пациенты получали пероральный амоксициллин.

Посевы мочи выполнялись 2 раза в неделю в плановом порядке у всех реципиентов после алло-ТГСК в период их нахождения в стационаре, а также у всех пациентов с эпизодом фебрильной нейтропении или клиническими признаками геморрагического цистита. Таким образом, в среднем от каждого больного выполнено около 15 бактериологических посевов мочи (от 5 до 34 культур, в зависимости от назначений лечащих врачей). Учитывали результаты культур в сроки с Д–60 по Д–1 до ТГСК (обозначали как период 0), а также в течение 1-го месяца после ТГСК: с Д0 по Д+30 (обозначали как период 1); 2-го месяца: с Д+31 по Д+60 (обозначали как период 2); 3-го месяца: с Д+61 по Д+90 (обозначали как период 3); 4-го месяца: с Д+91 по Д+120 (обозначали как период 4). Взятие биоматериала, его транспортировку и культивирование микроорганизмов на агаре в аэробных условиях проводили по стандартным методикам [3, 13].

В анализ были включены больные, у которых проводили серийные бактериологические посевы

в сроки до 2 мес до ТГСК и в течение 4 мес после трансплантации кроветворных клеток. При анализе полученных данных пациенты были разделены на 3 возрастные группы: 1-я группа – 1–5 лет ($n = 15$); 2-я группа – 6–14 лет ($n = 15$) и 3-я группа – 15–21 год ($n = 20$). Сведения о клинических характеристиках, параметрах ТГСК, режимах кондиционирующей терапии и наличии реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) у конкретных пациентов брали из базы данных госпитального регистра НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, составленной на основе материалов историй болезни, амбулаторных документов, выборки из результатов бактериологических исследований отделения микробиологии ПСПбГМУ им. И.П. Павлова.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 5.0 методами непараметрического однофакторного анализа с применением критериев хи-квадрат для оценки достоверности различий между выборками и критерия Пирсона для оценки достоверности корреляций между выборками, а в ряде серий – с использованием параметрических методов сравнения выборок по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Высеваемость бактерий в общей выборке результатов. В 276 (37,6%) из 734 посевов мочи результаты были положительными, в том числе 1 вид бактерий был обнаружен в 237 случаях, 2 вида – в 34 культурах и 3 вида – в 5 посевах. Из них чаще всего выявлялись: *K. pneumoniae* – 95/734 (12,9%); *E. faecalis* – 90/734 (12,3%); *E. coli* – 65/734 (8,9%); *E. faecium* – 50/734 (6,8%). *S. epidermidis* и *A. baumannii* встречались значительно реже – 17/734 (2,3%) и 5/734 (0,7%) случаев соответственно. Другие бактерии встречались менее чем в 0,25% посевов (*M. luteus*, *S. saprophyticus*, *S. viridans*, *S. haemolyticus*, *Pseudomonas spp.*, *Corynebacterium spp.*). В дальнейший анализ были включены наиболее часто встречавшиеся бактерии, а именно *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. coli*, *E. faecium*.

Фактор возраста пациентов. Частота высеваемости *K. pneumoniae* и *E. coli* в исследованных образцах различалась по возрастным группам. Так, частота позитивных культур этих видов бактерий была значительно более высокой в группе младшего возраста (до 5 лет) по сравнению со старшими возрастными группами (таблица 1). При анализе общего массива проб наблюдается значительно более высокая частота выявления *K. pneumoniae* у пациентов до 5 лет (16,3% против 9,4% в группе 6–14 лет).

Таблица 1

Высеваемость основных классов бактерий в моче у пациентов до 21 года в период проведения ТГСК (от Д-60 до Д+120)

Table 1

Isolation rates for common bacteria in urine from the patients ≤ 21 years old over the entire HSCT period (D-60 to D+120)

Вид микроорганизмов Microbial species	Возрастная группа Age group			Общая группа Total group	Уровень p p value
	1-я группа (1–5 лет), n Group 1 (1–5 years old), n	2-я группа (6–14 лет), n Group 2 (6–14 years old), n	3-я группа (15–21 год), n Group 3 (15–21 years old), n		
<i>K. pneumoniae</i>	45/268* 16,3%	15/159 9,4%	35/307 11,4%	95/734 12,9%	0,013
<i>E. coli</i>	31/268* 11,6%	16/159 10,1%	18/307 5,9%	65/734 8,9%	0,005
<i>E. faecalis</i>	22/268 8,2%	17/159 10,7%	51/307* 16,6%	90/734 12,3%	0,17
<i>E. faecium</i>	22/268 8,2%	10/159 6,3%	18/307 5,9%	50/734 6,8%	0,29

Примечание. p – уровень достоверности между 1-й и 2–3-й группами пациентов; * – $p < 0,05 < 0,001$.

Notes. HSCT – Hematopoietic stem cell transplantation; p – the differences between 1st and 2nd–3rd age groups are significant; * – $p < 0.05 < 0.001$.

Факторы, связанные с параметрами трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Из таблицы 2 видно, что существенных половых различий в частоте высеваемости различных бактерий из мочи не отмечается, за исключением *E. faecium*. Высеваемость данного вида достоверно повышена у девочек после ТГСК. Имеется достоверное повышение высеваемости *K. pneumoniae* и *E. faecalis* после транс-

плантации периферических стволовых клеток по сравнению с инфузиями костного мозга. Однако наиболее явным эффектом было высокодостоверное повышение высеваемости *K. pneumoniae* и *E. coli* при использовании миелоаблативного режима кондиционирования при ТГСК. Эти различия могут выявляться в определенные сроки после трансплантации (рисунок 1).

Таблица 2

Влияние различных факторов на высеваемость основных микроорганизмов в моче у реципиентов в возрасте до 21 года в сроки 1–4 мес после ТГСК

Table 2

Effects of different clinical factors upon isolation rates of common microorganisms in urine from recipients under 21 years old over 1st to 4th months after HSCT

Параметр Parameter	Вид микроорганизмов Microbial species			
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>
Общая частота высеваемости, n General isolation rate, n	72/546 13,2%	38/546 7,0%	59/546 10,8%	38/546 7,0%
Пол пациентов, n : Patient gender, n :				
мужской male	54/396 13,6%	24/396 6,1%	39/396 9,9%	22/396 5,6%
женский female	18/150 12,0%	14/150 9,3%	20/150 13,3%	16/150 10,7%
	$p = 0,61$	$p = 0,18$	$p = 0,24$	$p = 0,04$
Тип трансплантата, n : Type of transplant, n :				
ПГСК PHSC	22/113 19,5%	8/113 7,1%	19/113 16,8%	5/113 4,4%
костный мозг bone marrow	43/399 10,8%	24/399 6,0%	38/399 9,5%	30/399 7,5%
	$p = 0,014$	$p = 0,68$	$p = 0,03$	$p = 0,34$
Режим кондиционирования, n : Conditioning regimen, n :				
миелоаблативный myeloablative	65/382 17,0%	34/382 8,9%	36/382 9,4%	27/382 7,1%
немиелоаблативный non-myeloablative	7/164 4,3%	4/164 2,4%	23/164 14,0%	11/164 6,7%
	$p = 0,00006$	$p = 0,006$	$p = 0,113$	$p = 0,88$
Острая РТПХ I–IV степени, n : Acute GvHD, grade I–IV, n :				
есть present	43/338 12,7%	28/338 8,3%	32/338 9,5%	26/338 7,7%
нет absent	22/153 14,4%	8/153 5,2%	23/153 15,0%	9/153 5,9%
	$p = 0,616$	$p = 0,229$	$p = 0,07$	$p = 0,47$

Примечание. ПГСК – периферические гемопоэтические стволовые клетки.

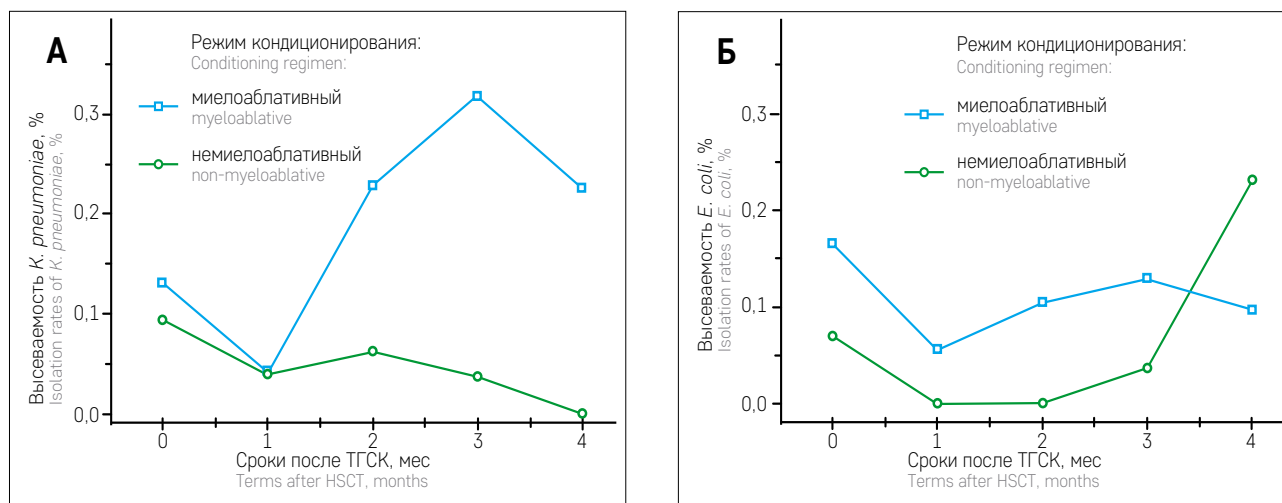
Notes. PHSC – peripheral hematopoietic stem cells; "graft versus host" disease.

Рисунок

Высеваемость *K. pneumoniae* (А) и *E. coli* (Б) из мочи пациентов в различные сроки после ТГСК у лиц до 21 года в зависимости от применения миело- и немиелоаблативного кондиционирования. По оси абсцисс – сроки после ТГСК, мес. По оси ординат – частота высеваемости микроорганизма.

Figure

Isolation rates of *K. pneumoniae* (A) and *E. coli* (Б) from urine at different terms after HSCT in the patients under 21 years old treated at myeloablative vs. non-myeloablative conditioning regimens. Abscissa – terms post-HSCT, months. Ordinate – isolation rates of the microbes

**Таблица 3**

Временная динамика частоты высеваемости *K. pneumoniae* у пациентов до 21 года с повторными посевами данного вида до и в течение 4 мес после ТГСК ($M \pm m$)

Table 3

Time-dependent changes of *K. pneumoniae* isolation frequency in the patients ≤ 21 years old with repeated *Klebsiella* cultures before and over 4 months after HSCT ($M \pm m$)

Параметр Parameter	Срок после ТГСК, мес Terms after HSCT, months				
	0	1	2	3	4
Высеваемость <i>K. pneumoniae</i> , % <i>K. pneumoniae</i> isolation rate, %	22,2 + 2,6	8,1 + 3,0 $p = 0,01$	33,3 + 6,5 $p = 0,002$	61,4 + 7,4 $p = 0,006$	25,0 + 8,3 $p = 0,003$
Число посевов Number of cultures	81	86	54	44	28

Примечание. Уровни достоверности (p) указаны для различий высеваемости в данный срок по сравнению с предыдущим (например, 2 мес против 1 мес).
Notes. The p significance levels are shown for differences in isolation rates at the given terms, as compared to the preceding term.

В течение 1-го месяца после кондиционирования и ТГСК наблюдалось достоверное снижение частоты высевок *K. pneumoniae* и *E. coli* из мочи пациентов (рисунок), что может быть непосредственным результатом стандартной противомикробной профилактики в период глубокой нейтропении после трансплантации (препараты фторхинолонов). В более поздние сроки (3–4 мес после ТГСК) после миелоаблативного режима цитостатической терапии отмечалось достоверное повышение высеваемости *K. pneumoniae* (рисунок А). Частота высеваемости *E. coli* также была значительно сниженной в ранние сроки (1-й месяц после миелоаблативной терапии), что, вероятно, связано с противомикробной терапией, проводимой у пациентов при ТГСК (рисунок Б). Немиелоаблативная терапия до ТГСК также сопровождалась снижением высеваемости *E. coli* в моче с последующим восстановлением этого показателя до исходных цифр в 3-й и 4-й месяцы.

Среди обследованной нами группы пациентов ($n = 50$) мы выделили подгруппу ($n = 16$; 32%

от общего числа пациентов) с повторной высеваемостью *K. pneumoniae* (> 3 позитивных проб за период обследования) – всего 298 посевов. Высеваемость по срокам после ТГСК представлена в таблице 3.

Из полученных результатов видно, что в течение 1-го месяца отмечается достоверное снижение высеваемости *K. pneumoniae*, а далее (в сроки 2–3 мес) выявлено весьма существенное повышение положительных культур. Этот результат соответствует данным, полученным в общей группе больных, и подтверждает факт супрессии этого микроорганизма в ранний период и активации его роста в более поздние сроки.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашей выборке исследованы образцы мочи от пациентов после ТГСК с осложнениями в виде фебрильной нейтропении, циститов, требующих проведения бактериологических посевов мочи по клиническим показаниям. Общая частота положительных результатов бактериологических посевов

была весьма высокой (37,6%). Цитотоксические повреждения эпителия, связанные с химиотерапией, а также глубокая иммуносупрессия после кондиционирования и ТГСК наряду с цитотоксическими повреждениями эпителия являются основными предпосылками развития бактериурии у пациентов младших возрастных групп. Следует учесть, что мочу для исследований брали при развитии фебрильной нейтропении или симптомах цистита, что отражает бактериальную колонизацию мочевых путей на фоне осложнений, возникающих после ТГСК. При этом бактериурия оказалась достаточно частым событием в данной группе, что значительно превышает средние значения бактериурии в детском возрасте [2].

Как отмечалось рядом авторов, у детей первого года жизни моча обычно стерильна [1]. Колонизация слизистых оболочек мочевого тракта у детей чаще всего происходит по восходящему пути, прежде всего бактериями кишечного происхождения (*Enterococcus* spp. и *Klebsiella* spp.). Как показали исследования турецких авторов, эти микробы не выявляются в моче здоровых детей, хотя данная микрофлора присутствует в периуретральной области у большинства мальчиков в возрасте до 12 лет [14].

Мочевые бактериальные инфекции довольно редки даже у пациентов, находящихся в отделении интенсивной терапии на длительной искусственной вентиляции легких в связи с тяжелой респираторной инфекцией: из 165 детей был обнаружен только один случай мочевой инфекции на фоне антибиотикотерапии [15]. Таким образом, высокая частота выявления культивируемых микробов, в особенности оппортунистических (*Enterococcus* spp. и *Klebsiella* spp.), в моче детей до и после ТГСК свидетельствует о глубине иммунодефицита, который развивается у них в процессе длительной химиотерапии гематологических злокачественных заболеваний, или иммунодефицита как следствия тяжелых анемий у части из наблюдавшихся нами пациентов. В этом плане можно предполагать, что повторная цитостатическая терапия пациентов, интенсивное кондиционирующее лечение, ведущее к глубокой лейкопении в течение 2–3 нед до приживления стволовых клеток, составляют важнейшую предпосылку заселения мочевых путей оппортунистическими кишечными микробами у детей младшего возраста, несмотря на активные механизмы иммунного ответа у данной категории пациентов [1, 4].

Среди наиболее частых бактериальных видов, выявленных в мочевых культурах пациентов, только *Klebsiella* имела резистентность, что, очевидно, связано с ее общеизвестной способностью

к продукции полирезистентных штаммов. Данная особенность *Klebsiella* наиболее характерна для больничных инфекций даже при использовании стандартных мер асептики. Выявленное нами снижение частоты *Klebsiella* в ранние сроки (1-й месяц) после ТГСК можно объяснить первичной чувствительностью нормальных эндогенных штаммов пациентов к рутинной антибактериальной профилактике. В более позднем периоде (2–3 мес) при дальнейшей противомикробной терапии у тяжелых больных в отделениях интенсивной терапии возможна селекция штаммов *Klebsiella* с повышенной устойчивостью к антибиотикам, например карбапенемам [16]. Поэтому ДНК-диагностика стандартных генов лактамаз в клинических изолятах *Klebsiella* до и после ТГСК может пролить свет на механизмы селекции резистентных микроорганизмов и разработки схем комбинированного лечения инфекций, вызванных этой и другими резистентными грамотрицательными бактериями [17].

Повторные высевы *Klebsiella* у части пациентов (таблица 3) могли быть также связаны с гипофункцией или отторжением трансплантата в сроки наблюдения (до 120 дней). Однако ни у одного пациента из этой группы мы не зафиксировали фактов отторжения трансплантата в данный период времени. Эти пациенты были живы, по крайней мере, в течение первых 6 мес после ТГСК.

Интенсивность кондиционирующей терапии при этом является важным фактором локального иммунодефицита. Известно, что доза химиотерапии в значительной мере определяет степень развития мукозита, который поражает слизистые оболочки рта, желудочно-кишечного тракта и мочевых путей после ТГСК. Общеизвестно, что при этом часто происходит активация эндогенных герпесвирусов, которые утяжеляют течение мукозитов [18]. Следует также учитывать возможные взаимосвязи различных микроорганизмов в развитии геморрагического цистита, который часто ассоциирован с локальной ВК-вирусной инфекцией, но может наблюдаться и смешанная вирусно-бактериальная природа. Это может служить обоснованием для выработки рациональной антибактериальной терапии в данных клинических ситуациях.

ВЫВОДЫ

В нашей выборке исследованы образцы мочи от пациентов после ТГСК с осложнениями в виде фебрильной нейтропении, циститов, требующими проведения бактериологических посевов мочи по клиническим показаниям. Общая частота положительных результатов бактериологических посевов была весьма высокой (37,6%).

При этом в составе микробиоты мочи до ТГСК и в особенности после нее обнаруживаются известные оппортунистические патогены: *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. Faecalis*, *E. faecium*. Наиболее часто встречалась *K. pneumoniae*, которая выявляется в моче у значительной части пациентов в возрасте до 5 лет и может персистировать в течение 120 сут после ТГСК, что является показателем резистентности данного штамма к антибиотикотерапии, а также фактором риска инфекционной патологии других органов и систем. Особенно высока частота выявления *K. pneumoniae* у пациентов, получавших миелоаблативный режим кондиционирования.

При анализе временной динамики микробиоты мочи было показано значительное снижение высеваемости *K. pneumoniae* и *E. coli* в ранние сроки (1-й месяц) после проведения кондиционирования в миелоаблативном режиме, что можно объяснить применением антибактериальной профилактики в период кондиционирования и ТГСК.

Спектр бактерий, высеваемых в моче после цитостатической терапии и ТГСК, необходимо исследовать

в дальнейшем более подробно, в особенности – разнообразие некультивируемых бактерий с применением современных приемов 16S ДНК-секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS), как это сейчас широко применяется, в частности, при изучении микробиоты стула.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Chukhlov A.B. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9703-4378>

Spiridonova A.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9866-5016>

Vladovskaya M.D. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0215-4623>

Kazantsev I.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3818-6213>

Kozlov A.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4072-601X>

Gevorgyan A.G. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2905-8209>

Zykova T.A. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4456-2369>

Zubarovskaya I.S. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2594-7703>

Afanasyev B.V. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1235-4530>

Литература

- Zasloff M. Antimicrobial peptides, innate immunity, and the normally sterile urinary tract. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18 (11): 2810–6.
- Nicolle L.E. Asymptomatic Bacteriuria and Bacterial Interference. *Microbiol Spectr* 2015; 3 (5). DOI: 10.1128 /microbiolspec.UTI-0001-2012.
- Zorc J.J., Kiddoo D.A., Shaw K.N. Diagnosis and management of pediatric urinary tract infections. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18 (2): 417–22.
- Chukhlov A.B., Pankratova O.S. Opportunistic microflora at unusual sites: marker pathogens in severe posttransplant immune deficiency. *Cellular Therapy and Transplantation* 2017; 6 (4): 28–41.
- Marena C., Zecca M., Carenini M.L., Bruschi A., Bassi M.L., Olivieri P., et al. Incidence of, and risk factors for nosocomial infections among hematopoietic stem cell transplantation recipients, with impact on procedure-related mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22 (8): 510–7.
- Guthrie K.A., Yong M., Frieze D., Corey L., Fredricks D.N. The impact of a change in antibacterial prophylaxis from cefazidime to levofloxacin in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45 (4): 675–81.
- Livadiotti S., Milano G.M., Serra A., Folgori L., Jenkner A., Castagnola E., et al.; Infectious Diseases Working Group of the Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica. A survey on hematology-oncology pediatric AIEOP centers: prophylaxis, empirical therapy and nursing prevention procedures of infectious complications. *Haematologica* 2012; 97 (1): 147–50. DOI: 10.3324/haematol.2011.048918.
- Czirók E., Prinz G.Y., Dénes R., Reményi P., Herendi A. Value of surveillance cultures in a bone marrow transplantation unit. *J Med Microbiol* 1997; 46 (9): 785–91.
- Simojoki S.T., Kirjavainen V., Rahiala J., Kanerva J. Surveillance cultures in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplant* 2014; 18 (1): 87–93. DOI: 10.1111/ptr.12177.
- Панина М.В., Клясова Г.А., Новичкова Г.А., Мякова Н.В., Литвинов Д.В., Байдильдина Д.Д. и др. Этиологическая структура бактериемий у детей с онкогематологическими заболеваниями и депрессиями кроветворения в многопрофильной больнице «университетского» типа. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2014; 13 (3): 49–56.
- Вавилов В.Н., Аверьянова М.Ю., Бондаренко С.Н., Станчева Н.В., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В. Бактериальные инфекции в раннем периоде после трансплантации аллогенного костного мозга. *Терапевтический архив* 2015; 87 (7): 88–93.
- Любимова А.В., Ряховских С.А., Шляпина Н.А., Бродина Т.В., Аверьянова М.Ю., Асланов Б.И., Нечаев В.В. Эпидемиологические особенности бактериальных инфекций в отделении трансплантации костного мозга. *Инфекция и иммунитет* 2017; 7 (4): 350–8.
- Козлов П.С., Меньшиков В.В., Михайлова В.С., Шуляк Б.Ф., Долгих Т.И., Круглов А.Н. и др. Бактериологический анализ мочи. *Клинические рекомендации*. М.: 2014. 33 с.
- Agartan C.A., Kaya D.A., Ozturk C.E., Gulcan A. Is aerobic preputial flora age-dependent? *Jpn J Infect Dis* 2005; 58 (5): 276–8.
- Randolph A.G., Reder L., Englund J.A. Risk of bacterial infection in previously healthy respiratory syncytial virus-infected young children admitted to the intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23 (11): 990–4.
- Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S., Ilna E.N., Lobzin Y.V., Shlyapnikov S.A., Sidorenko S.V. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 44 (2): 152–5.
- Fritzenwanker M., Imirzalioglu C., Herold S., Wagenlehner F.M., Zimmer K.P., Chakraborty T. Treatment Options for Carbapenem-Resistant Gram-Negative Infections. *Dtsch Arztebl Int* 2018; 115 (20–21): 345–52.
- Pankratova O.S., Chukhlov A.B., Shiryayev S.N., Eismont Y.A., Vavilov V.N., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V. Herpesviruses and oral ulcerations in hematopoietic SCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48 (10): 1364–5. DOI: 10.1038/bmt.2013.74.