

КАЗАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций мочевыводящей системы

Исаева Г.Ш., д.м.н., зав.
каф.микробиологии имени академика
В.М. Аристовского



Возбудители инфекций мочеполовой системы

Инфекционные процессы в органах мочеполовой системы, в зависимости от причины их возникновения, путей передачи и возбудителей, разделяют на инфекции, передаваемые половым путем, и инфекции мочевыводящей системы, которые могут быть результатом как эндоинфекции, так и приобретенной госпитальной инфекции.

Таблица 15.1. Этиологическая структура возбудителей урогенитальной инфекции

Возбудители инфекций	
передаваемых половым путем	мочевыводящей системы
<i>T. pallidum</i> <i>N. gonorrhoeae</i> <i>M. genitalium</i> <i>U. urealyticum</i> <i>C. trachomatis</i> <i>H. ducreyi</i>	<i>E. coli</i> <i>S. saprophyticus</i> <i>E. faecalis</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>M. hominis</i> <i>Candida</i> <i>Proteus</i> <i>Serratia</i> <i>K. oxytoca</i> <i>K. pneumoniae</i>



инфекции мочевыводящей системы

В норме почки, мочеточники, мочевого пузырь и моча стерильны.

Микробиота, входящая в состав уретры, представлена кислородчувствительными грамотрицательными палочками родов *Prevotella*, *Porfiromonas* и кислородорезистентными грамположительными бактериями *S. epidermidis*, *Corynebacterium*, *M. smegmatis*.

Диагностику этих процессов проводят, определяя степень бактериурии.

эндоинфекции

цистит, пиелонефрит,
простатит

госпитальная инфекция



Преаналитический этап

В условиях стационара средний медицинский персонал отделения отвечает за подготовку пациента, правильный сбор мочи самим пациентом, соблюдение режима хранения и доставки проб в лабораторию.

В амбулаторных условиях пациент собирает мочу дома без наблюдения медицинского персонала.

Стерильная одноразовая емкость для сбора мочи с завинчивающейся крышкой или стерильная одноразовая пробирка с крышкой; или специальная одноразовая пробирка для сбора мочи. При использовании стерильной стеклянной пробирки с целлюлозной или ватно-марлевой пробкой следят за тем, чтобы не замочить пробку материалом (объем пробы 10-20 мл)

Хранение и транспортировка проб мочи

Образец мочи необходимо доставить в лабораторию в течение 2 ч после взятия.

При невозможности доставки проб мочи в лабораторию в указанный срок разрешается хранить их при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ч с момента взятия. Образцы нельзя замораживать!





Идентификация образца

Маркировка.

Заявка (направление) на исследование

Сопроводительный документ

Направление в ЛДЦ ГАУЗ «РКНБ» (г. Казань, пр-т Победы, д.83, корп.3)			
Наименование медицинской организации, направившей биоматериал		[redacted]	
Удделение		Главный БХ	
Информация о пациенте (фамилия, имя, отчество полностью)		[redacted]	
Дата рождения (число, месяц, год)		14.10.2022	
Адрес места проживания		[redacted]	
Полное ОМС (серийная кодировка, номер)		[redacted]	
Диагноз	Код (для сериала ВГ)	N11.1	
Вид биоматериала, № образца		1. Моча - 2	
Дата и время сбора биоматериала		20.10.22 - 8.02	
Цель исследования (нужные вычеркнуть): установление клинического диагноза, уточнение клинического диагноза, наблюдение динамики патологического процесса, профилактический осмотр			
Перечень необходимых исследований, с указанием метода исследования		Посев мочи на микрофлору, чувствительность к антибиотикам	
Врач (Ф.И.О., подпись)		[redacted]	
Дата и время доставки в лабораторию		[redacted]	
Регистрационный номер		41163530 25 АЕН.17	
*серийный номер на каждый образец биоматериала		[redacted]	



Оценка пригодности образца для исследования

Не пригодными для бактериологического исследования являются образцы:

- немаркированные или несущие неверную маркировку;
- для которых не указаны дата, время и место сбора мочи;
- собранные ранее 24 ч до момента доставки в лабораторию;
- при нарушении целостности и/или герметичности контейнеров (в т.ч. пролитые пробы);
- направленные для выделения анаэробных бактерий, за исключением образцов, полученных методом надлобковой пункции.

Методы бактериологического (культурального) исследования мочи

Титр бактерий в моче определяют на неселективных средах следующими методами:

Несекторный метод



Определение степени бактериурии несекторным методом

Объем высеванной мочи	Число выросших колоний	Титр бактерий в моче, КОЕ/мл
1 мкл	1	10^3
	10	10^4
	100	10^5
10 мкл	1	10^2
	10	10^3
	100	10^4
100 мкл	1	10^1
	10	10^2
	100	10^3



Микробиологическое исследование мочи

Определение степени бактериурии. Степень бактериурии определяют количеством КОЕ в 1 мл мочи (КОЕ/мл). Определять степень бактериурии можно прямым посевом мочи в определенном объеме и методом секторных посевов по Голду.

Для посева мочи по Голду используют петлю диаметром 2 мм (вместимость — 0,005 мл). Для этого чашку с питательной средой разделяют на четыре сектора — А, 1, 2, 3. Петлей проводят посев штрихом (30–40 штрихов) в секторе А. Затем петлю прожигают и делают посев (четыре штриха), захватывая материал из сектора А в сектор 1. Петлю снова прожигают, делая аналогичный посев из сектора 1 в сектор 2 и таким же образом делают посев из сектора 2 в сектор 3. Чашки Петри с посевами помещают в термостат для инкубации при температуре 37 °С в течение 18–24 ч, после чего подсчитывают количество колоний, выросших на разных секторах. Определение степени бактериурии по количеству выделенных колоний проводят согласно табл. 15.2.

Метод секторных посевов

Схема посева и учета колоний количественным методом по Goldy (неразведенного материала)

А	Количество колоний в секторах			Количество бактерий в 1 мл мочи
	I	II	III	
1-6	-	-	-	менее 1000
8-20	-	-	-	3000
20-30	-	-	-	5000
30-60	-	-	-	10000
70-80	-	-	-	50000
100-150	5-10	-	-	100000
не сосч.	20-30	-	-	500000
"-	40-60	-	-	1 млн.
"-	100-140	10-20	-	5 млн.
"-	не сосч.	30-40	-	10 млн.
"-	"-	60-80	колонии един.	100 млн.

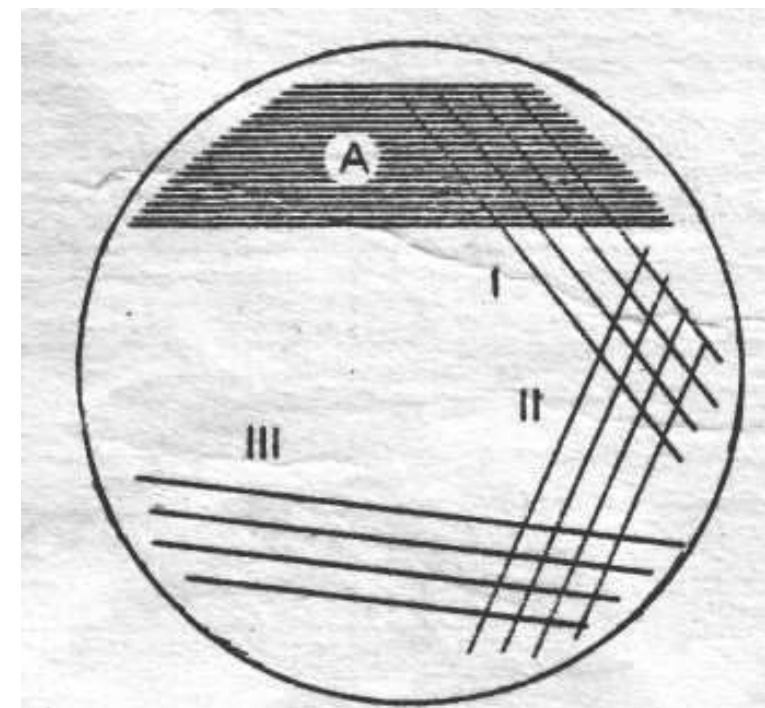
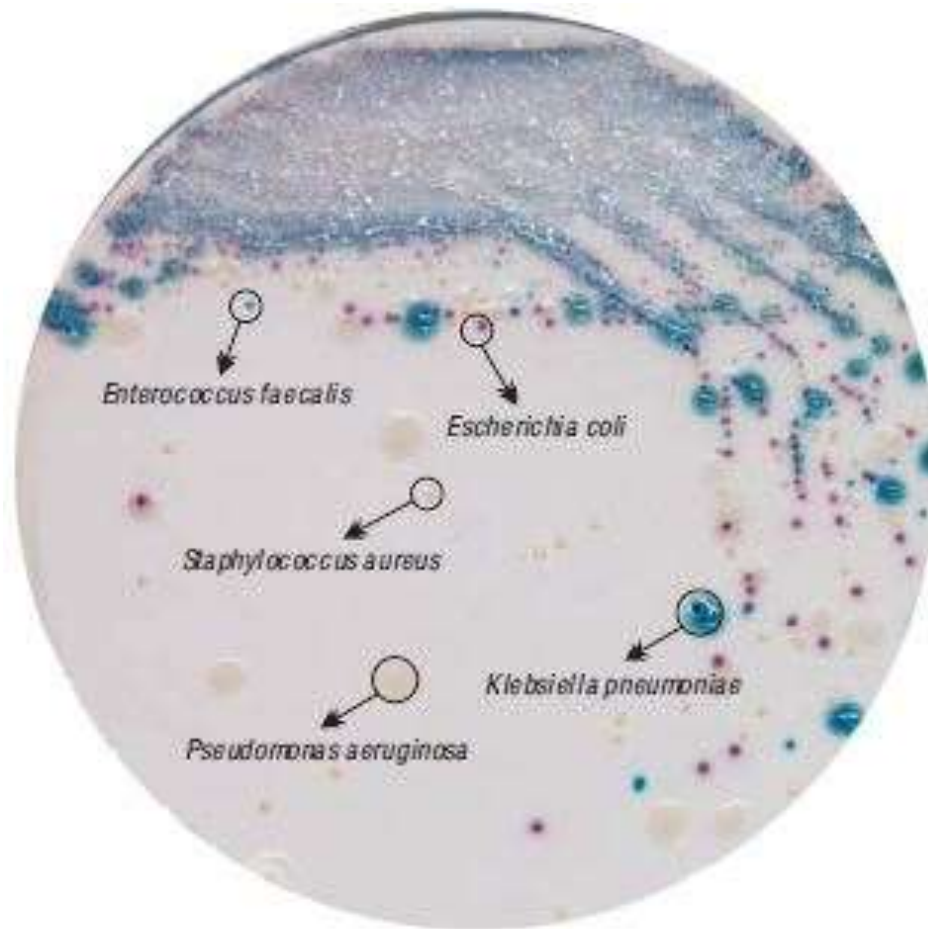
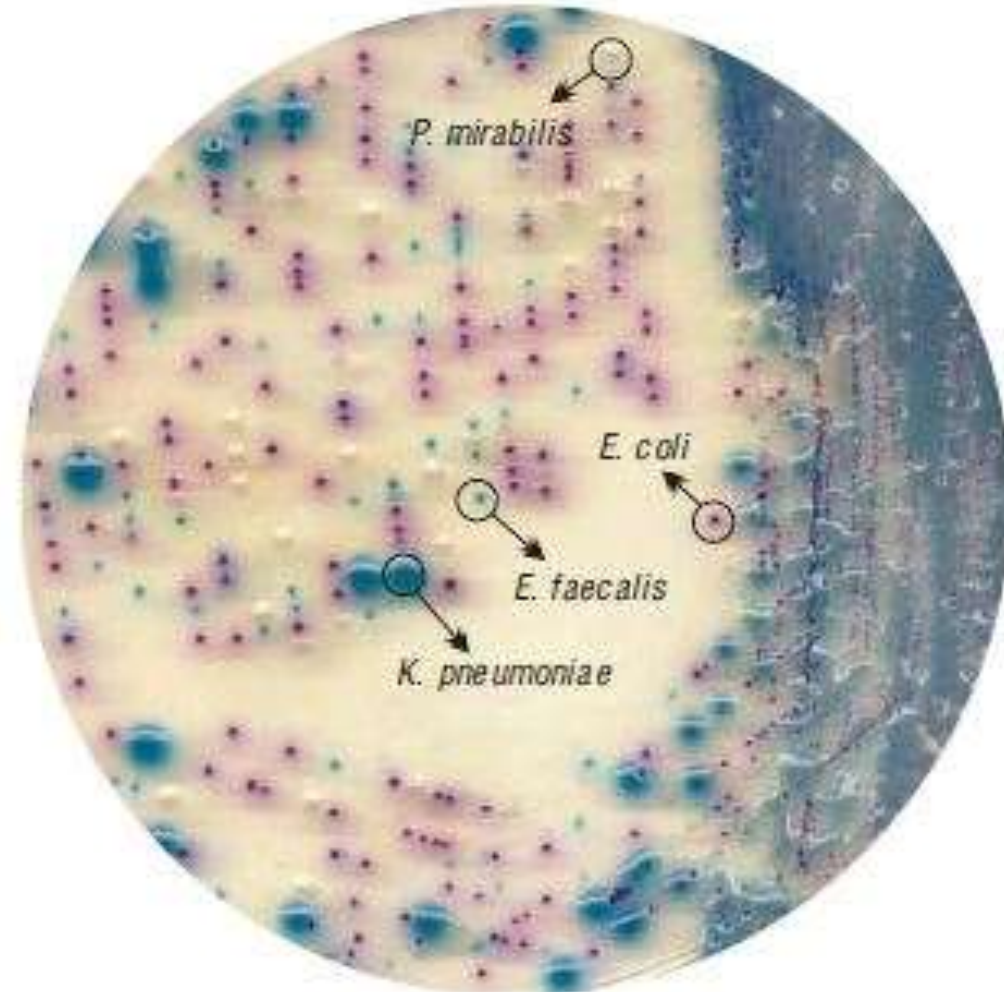


Схема посева по Goldy

Таблица 15.2. Определение степени бактериурии по количеству выделенных колоний
Микробиология, вирусология. Руководство к практическим занятиям : учебное пособие / под ред. В. В. Зверева,
М. Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022. - 408 с. : ил.



M1418 – ХайХром агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий, модифицированный



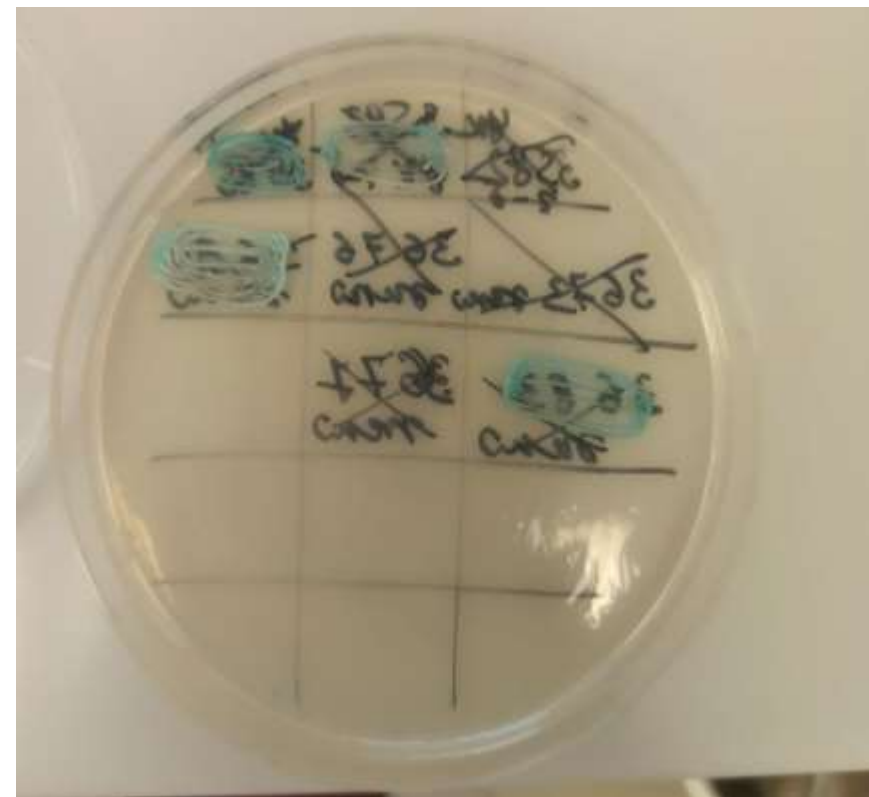
ХайХром агар



Хромогенный агар для
обнаружения и
подсчета **уропатогенных бакт
ерий**



Энтерококкагар
Питательная среда для
выделения **энтерококк
ов**



**ХайХром селективного аг
ар для грибов Candida**



При установлении диагностически значимой степени бактериурии проводят идентификацию выделенных из мочи микроорганизмов по культуральным, биохимическим и тинкториальным свойствам, которые определяют ручными методами, коммерческими тест-системами, автоматическими микробиологическими анализаторами или масс-спектрометрическим анализом.

Современное оборудование



Анализатор для бактериологического скрининга серии «ЭйчБиЭль» (HB&L)

Бактериологический анализатор, способный выполнять посев на стерильность, тест на остаточную антимикробную активность (ОАА) и определение чувствительности к антибиотикам проб мочи, стерильных и нестерильных жидкостей и иных биологических проб.

URIN SYSTEM PLUS («Liofilchem diagnostici», Италия)

Система для подсчета общего количества бактерий в моче, определения 7 возбудителей и чувствительности к 14 антибиотикам. 24-луночная система, содержащая сухие биохимические субстраты и антибиотики. Дает возможность за 24 часа определить возбудителя воспаления в моче и правильно подобрать антибиотик для лечения. Интерпретация по изменению цвета в лунках.



Образец мочи со значительной **бактериурией** (2-GR++) и присутствием *E.coli* (3-ESC) и *KES-группы* (6-KES).

Определение чувствительности к антибиотикам 23-SXT= Резистентный.



Образец мочи со значительной **бактериурией** (2-GR++) и присутствием *Proteus spp.* (4-PRO) и *KES-группы* (6-KES).

Определение чувствительности к антибиотикам 20-CIP, 22-AUG, 23-SXT= Резистентный.



При интерпретации результатов бактериологического исследования мочи следует учитывать следующие критерии:

- наличие у пациента клинических проявлений ИМП;**
- соблюдение стандартных процедур взятия, транспортировки и исследования (инокулированный объем, техника посева) проб мочи;**
- результаты отдельных лабораторных исследований – количество выделенных бактерий (моно- или смешанная культура), их уропатогенность, их титр в моче.**



Патогенный потенциал выделенных культур бактерий оценивают в соответствии со следующей классификацией:

Первичные возбудители ИМП (группа I)	<i>E. coli</i> и <i>S. saprophyticus</i> , лептоспиры, сальмонеллы и микобактерии.
Вторичные возбудители ИМП (группа II)	<i>Enterobacter</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Citrobacter</i> spp., <i>Morganella</i> spp., <i>Serratia</i> spp., <i>C. urealyticum</i> , <i>Haemophilus</i> spp. и <i>S. pneumoniae</i> .
Сомнительные возбудители ИМП (группа III)	коагулазо-негативные стафилококки (за исключением <i>S. saprophyticus</i>), <i>S. agalactiae</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>



Диагностически значимым титром патогенных бактерий в моче считают:

При исследовании 1 мкл проб, полученных при свободном мочеиспускании от пациентов с симптомами ИМП:

- для первичных патогенов (группа I) при изоляции их в моно- или смешанной культуре с еще одной бактерией — $\geq 10^3$ КОЕ/мл;
- для вторичных патогенов (группа II) при изоляции их от мужчин и женщин в монокультуре — 10^3 и 10^4 КОЕ/мл, соответственно;
- для вторичных патогенов (группа II) при изоляции их в смешанной культуре с еще одной бактерией и сомнительных патогенов (группа III) — $\geq 10^5$ КОЕ/мл.



Учет результатов.

При отсутствии роста или очень низкой степени бактериурии (менее 200 КОЕ/мл), свидетельствующей о контаминации, чашки с кровяным агаром оставляют в термостате еще на 1 сут, поскольку может наблюдаться замедленный рост стрептококков. При отсутствии роста стрептококка исследование заканчивают (отрицательный результат).

- При бактериурии в пределах 200–1000 КОЕ/мл идентификацию проводят лишь в случае хронической инфекции (на фоне лечения при повторных анализах).
- Бактериурия менее 1000 КОЕ/мл обычно является результатом контаминации.
- Бактериурию 10 000 КОЕ/мл расценивают как сомнительный результат, что требует повторного анализа.
- Бактериурия 100 000 КОЕ/мл или выше указывает на наличие воспалительного процесса.



Список литературы

1. Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686-21 "санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней"
2. Электронное издание на основе: Микробиология, вирусология. Руководство к практическим занятиям : учебное пособие / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2022. - 408 с. : ил. - DOI 10.33029/9704-6711-4-MIC-2022-1-408. - ISBN 978-5-9704-6711-4.
3. Электронное издание на основе: Клиническая лабораторная диагностика : учебник : в 2 т. / А. А. Кишкун, Л. А. Беганская. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. - 624 с. : ил. - Т. 2. - DOI: 10.33029/9704-6085-6-CLD2-2021-1-624. - ISBN 978-5-9704-6085-6.
4. МУ 4.2.2039-05 методы контроля. биологические и микробиологические факторы. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории
5. Клинические рекомендации «Бактериологический анализ мочи», КДЛ 8, утв. профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 25.12.2013 года.