



# Современная микробиологическая диагностика инфекций мочевых путей

Уразбаева Д.Ч.  
Нак medical, г.Алматы

## Актуальность

Инфекции мочевых путей (ИМП) относятся к самым распространенным инфекционным заболеваниям. В структуре заболеваемости экономически развитых стран занимают 7 место.

В США приходится более 7 млн визитов к врачу в год.

Около 15% всех амбулаторно назначаемых в США антибиотиков, общей стоимостью более 1 млрд долларов в год, выписываются по поводу ИМП.

ИМП являются причиной более 100 тыс. госпитализаций в год.

На их долю также приходится как минимум 40% от всех нозокомиальных инфекций, связанных с катетеризацией мочевого пузыря.

## Этиология ИМП

- ▶ Полиэтиологичность
- ▶ Экзо- и эндогенная инфекция
- ▶ Чаще всего – *E. coli* и другие представители семейства *Enterobacteriaceae*
- ▶ Второе место – грампозитивные кокки (*Enterococcus* и *Staphylococcus*)
- ▶ Третья группа – неферментирующие бактерии, грибы рода *Candida* и др.
- ▶ Иногда бывают ассоциации микроорганизмов.

## Патогенез инфекций мочевыводящих путей

Микроорганизмы могут попадать в мочевыводящие пути восходящим, гематогенным и лимфогенным путем.

### **Маркеры уропатогенности:**

Геномные острова патогенности

Адгезивная активность (хемотаксис, жгутики, пили, гиалуронидаза и нейраминидаза, специфические рецепторы бактерий и клеток-мишеней и др.)

Инвазия, внутриклеточное паразитирование

Продукция токсинов, ферментов патогенности



## Персистенция микроорганизмов

Механизмы защиты микроба от иммунной системы организма, стратегия выживания его в макроорганизме.

Клинические проявления – формирование хронического процесса, бактерионосительства, латентных инфекций.

Антилизоцимная, антикомплементарная, антилактоферриновая, антиинтерфероновая активность.

## Quorum sensing и биопленка

хорошо организованное, взаимодействующее сообщество микроорганизмов (Quorum sensing – чувство кворума).

### ► Биопленка:

- Состоит из бактерий, окруженных матриксом
- Повышает адгезию бактерий к эпителию
- Обеспечивает устойчивость к антибактериальным препаратам, факторам неспецифической противоинойфекционной защиты организма человека).

## Механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам в биопленках

1. Ограничение проникновения антибиотиков через биопленки.
2. Клетки-персистеры – клетки с сильно замедленным метаболизмом, «бактериальный анабиоз». Количество персистеров может варьировать от 1 до 10%. Антибиотики действуют на быстро растущие и размножающиеся клетки, блокируя жизненно важные для бактерий процессы жизнедеятельности. А жизнедеятельность клеток-персистеров так угнетена, метаболические процессы ингибированы.
3. Генная изменчивость у персистирующих в биопленке бактерий - могут обмениваться плазмидами резистентности.



## Материал для исследования

Инструкция по забору мочи для женщин, мужчин и детей

Туалет наружных половых органов

Собрать в стерильный контейнер среднюю порцию мочи (приблизительно 5-10мл).

### Мазок по Граму

Устанавливается количество микроорганизмов, лейкоцитов и клеток плоского эпителия, оцениваются тинкториальные свойства.





## Рекомендации ВОЗ по соответствию первичной микроскопии и бактериурии (увеличение в 1000 раз)

- ▶ 1-3 микроорганизма в поле зрения –  $10^5$  КОЕ/мл;
- ▶ 10-30 микроорганизмов в поле зрения –  $10^6$  КОЕ/мл;
- ▶ > 30 микроорганизмов в поле зрения -  $>10^6$  КОЕ/мл.
- ▶ Один или более лейкоцитов в поле зрения - инфекция мочевых путей.
- ▶ В мазках из мочи женщин большее количество эпителиальных клеток - загрязнение микрофлорой влагалища. Повтор сбора материала.

## Бактериологическое исследование

Рост на 5% кровяном агаре	Оценка
Менее 6 колоний	$< 10^3$ КОЕ/мл
6 – 60 колоний	$10^4 – 10^5$ КОЕ/мл
$>60$ колоний	$> 10^5$ КОЕ/мл

При интерпретации результатов учитывают:

- степень бактериурии;
- вид выделенного микроорганизма;
- повторность его выделения в процессе заболевания;
- присутствие в моче монокультуры или ассоциации.

## Интерпретация результатов

КОЕ/ мл	Клинические данные и метод сбора мочи	Микроорганизмы	Дальнейшая оценка
$10^2$	Женщины с признаками ИМП	Чистая культура грамотрицательных палочек	ИД, АБЧ
$10^2$	Надлобковый аспират мочевого пузыря	Все выделенные микроорганизмы	ИД, АБЧ
$10^3$	Взятая катетером моча у мужчин с признаками ИМП	Чистая культура возможных патогенных микроорганизмов	ИД, АБЧ
$10^4$	Взятая катетером моча	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Две культуры возможных патогенных микроорганизмов</li> <li>2. Три и более культуры</li> </ol>	ИД, АБЧ Повторить анализ
$10^5$	Средняя порция мочи	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Чистая культура возможного патогенного микроорганизма</li> <li>2. Культуры двух возможных патогенных микроорганизмов</li> <li>3. Более двух культур</li> </ol>	ИД, АБЧ ИД, АБЧ Повтор анализа

## 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.



## Идентификация

- *Escherichia coli*
- *Proteus spp.* / *Providencia spp.*
- *Pseudomonas spp.*
- KES группа (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*)
- *Enterococcus faecalis*
- *Staphylococcus aureus*
- *Candida spp.*

## Определение чувствительности

- Амикацин – 32 мкг/мл
- Гентамицин – 8 мкг/мл
- Тобрамицин - 8 мкг/мл
- Пиперациллин - Тазобактам – 128/4 мкг/мл
- Фосфомицин - 200 мкг/мл
- Цефоперазон – 64 мкг/мл
- Цефотаксим - 64 мкг/мл
- Цефтазидим – 32 мкг/мл
- Ампицилин/сульбактам – 32/16 мкг/мл
- Налидиксовая кислота – 32 мкг/мл
- Ципрофлоксацин – 4 мкг/мл
- Левофлоксацин – 8 мкг/мл
- Амоксицилин/клавулановая кислота – 32/16 мкг/мл
- Ко-тримоксазол – 8 мкг/мл



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.

## Программа внешнего контроля качества - ПОСЕВ МОЧИ

- **Продукт:** 5065 Посев мочи, количественный
- **Участники:** ~300 лабораторий
- **Пользователи:** Клинические микробиологические лаборатории
- **Раунды:** 4 раунда/год
- **Образцы:** 2 лиофилизированных образца и разбавитель
- **Исследования:** Выделение патогенов и определение чувствительности к антибиотикам
- **Отчетность:** Таблица результатов, оценочный отчет, отчет-гистограмма, комментарии эксперта



## ПРОЦЕСС РАУНДА – ПОСЕВ МОЧИ

### Исходная информация

- ▶ Образец 031: Онкологический больной с длительной инфекцией мочевого тракта.
- ▶ Образец 032: Образец, взятый при катетеризации госпитализированного 75-летнего мужчины. Никаких дополнительных данных о симптомах нет.



## ОЦЕНКА - ПОСЕВ МОЧИ

Образцы должны быть посеяны и инкубированы, как соответствующие клинические образцы.

### Оценка:

- ▶ Степень роста (КОЕ/мл)
- ▶ Число колоний на плашке на плашке культуры
- ▶ Тип роста (значения)
- ▶ Идентификация (названия микробов 1-3)
- ▶ Дальнейшая обработка образца
- ▶ Антибиотикочувствительность

# ОТЧЕТ О РЕЗУЛЬТАТАХ – ПОСЕВ МОЧИ

**Final answer to the clinician:**

1<sup>st</sup> identification/answer: **8 7 1 2** (please check the enclosed code list)  
 Answer in written: ***Klebsiella pneumoniae***

2<sup>nd</sup> identification/answer: \_\_\_\_\_ (please check the enclosed code list)  
 Answer in written: \_\_\_\_\_

3<sup>rd</sup> identification/answer: \_\_\_\_\_ (please check the enclosed code list)  
 Answer in written: \_\_\_\_\_

**Further handling:**

Would be referred to another laboratory for further examination  (11)

Would not be referred (possible further examinations performed in own lab.)  (13)

New sample requested  (15)

CODE	NAME
4712	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>
7640	<i>Escherichia coli</i>
5688	<i>Escherichia coli</i> , EHEC
7479	<i>Finegoldia magna</i> (syn. <i>Peptostreptococcus magnus</i> )
1309	<i>Flavobacterium</i> sp.
2092	<i>Fusobacterium</i> sp.
3393	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
9080	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
8491	<i>Gardnerella vaginalis</i>
8409	<i>Gemella morbillorum</i>
0998	<i>Haemophilus</i> sp.
7572	<i>Haemophilus influenzae</i>
5161	<i>Haemophilus influenzae</i> , type b
5505	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>
5316	<i>Kingella kingae</i>
9597	<i>Klebsiella</i> sp.
9416	<i>Klebsiella oxytoca</i>
8712	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
9436	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>
6393	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
3498	<i>Leuconostoc</i> sp.
2963	<i>Listeria</i> sp.
9370	<i>Listeria monocytogenes</i>
6991	<i>Micrococcus</i> sp.
8906	<i>Moraxella</i> sp.
9463	<i>Moraxella catarrhalis</i>
8921	<i>Moraxella osloensis</i>
2249	<i>Morganella morganii</i>
6485	<i>Mycobacterium</i> sp.
1026	<i>Mycobacterium abscessus</i>
3342	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
9640	<i>Neisseria</i> sp.
1757	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
5335	<i>Neisseria lactamica</i>
7202	<i>Neisseria meningitidis</i>
9994	<i>Neisseria mucosa</i>
5022	<i>Nocardia</i> sp.
7060	<i>Nocardia asteroides</i>
1156	<i>Ochrobactrum anthropi</i>

# ОТЧЕТ О РЕЗУЛЬТАТАХ – ПОСЕВ МОЧИ

## Antimicrobial susceptibility testing.

Microbe: Klebsiella pneumoniae

The susceptibility testing standard followed in your laboratory (tick the box):

CLSI  (002)      BSAC  (004)      CRG  (00x)  
 DIN  (005)      SFM  (006)      SRGA  (003)  
 EUCAST  (007)      Other, specify: \_\_\_\_\_

MIC-method in use (tick the box):  
 Test strip (e.g. E-test)       Microscan (Siemens)  
 Phoenix (BD)       Vitek (bioMerieux)

Other, specify: \_\_\_\_\_

Mark the inhibitory zone diameters and possible MIC results (mg/L) in the appropriate boxes (table below). Report the interpretations according to the SIR system (S = susceptible, I = intermediate, R = resistant).

Antimicrobial agent	Disk diffusion method Inhibitory zone (mm)	MIC-method (mg/L)	SIR-interpretation* (S/I/R)
Amoxicillin-clavulanate 0798		32	R
Ampicillin 0800			
Aztreonam 0795		0,25	S
Cefalexin 0802			
Cefotaxime 0808		1,5	I
Ceftriaxone 0813		0,5	I
Cefuroxime 0816		48	R
Ciprofloxacin 0860		1,5	R
Mecillinam 0828			
Meropenem 0857		0,25	S
Nitrofurantoin 0836			
Piperacillin-tazobactam 0853		12	I
Sulpha-trimethoprim 0870		0,25	S
Tobramycin 0874		0,5	S
Trimethoprim 0871		1,5	S

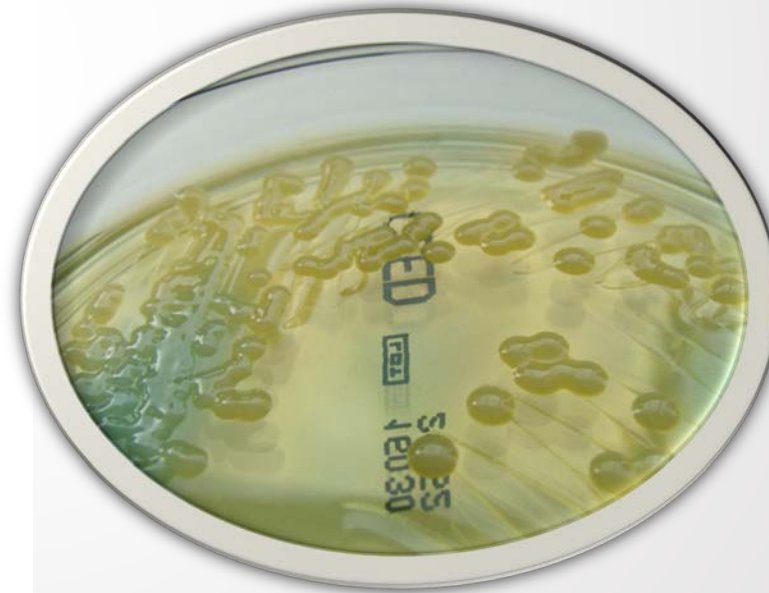
Is the strain an ESBL producer? (tick the box)

no  
 yes  
 probably/ possibly, sent for verification

Is the strain a carbapenemase producer

no  
 yes  
 probably/ possibly, sent for verification

Comments: \_\_\_\_\_



# ОЦЕНОЧНЫЙ ОТЧЕТ – ПОСЕВ МОЧИ

## Посев мочи, количественный, Раунд 4, 2013

Пожалуйста, прилагаем результаты раунда. Было 338 участников, в целом, из 16 стран. 202 лаборатории участвовали только в скрининге, а 136 лаборатории проводили дальнейшую идентификацию находок.

Образцами были 2 следующих лиофилизированных препарата:

### Образец 031:

*Klebsiella pneumoniae* KSKS 2831,

### Образец 032:

*Enterobacter cloacae* C090618, >

LABQUALITY	
External Quality Assessment Scheme	<b>FINAL REPORT</b>
<b>Urine Culture, quantitative Round 4, 2013</b>	Product no: 5065 10211241302 L200001, L200002
Thank you for participating in the scheme. Please find enclosed the results of the round. There were 338 participants altogether from 16 countries. 202 laboratories participated in screening only as 136 laboratories performed further identification of the findings. The specimens were two lyophilized preparations as follows: <b>Specimen 031:</b> <i>Klebsiella pneumoniae</i> KSKS 2831, >10 <sup>6</sup> CFU/mL. <b>Specimen 032:</b> <i>Enterobacter cloacae</i> C090618, >10 <sup>6</sup> CFU/mL.	Items dispatched: 2013-12-0 Closing date: 2014-01-0 Expected results displayed on the internet: 2014-01-0 Final report: 2014-02-0
<b>Results</b> The results of the quantitative urine culture are presented in summary tables in the vertical column of the table the interpretation of the growth significance and the culture media are reported, and in the horizontal column the extent of the growth as well as whether the specimen in question has been referred to another laboratory. Susceptibility testing results by disk diffusion method of specimen 031 are shown as a numerical summary. Laboratory specific histograms are drawn for each antimicrobial agent if the laboratory's result is included in a group of at least three results. By 'group' is meant results which are obtained and interpreted according to the same standard (e.g. EUCAST, CLSI, SRGA, BSAC etc.). Please check that the client code on the printout showing your results is correct. The scoring of the results has been implemented from the first round in 2013 and a laboratory specific scoring table will be included in the result reporting for each round henceforward.	<b>The report includes</b> - the expected results - comments on the results by the scheme expert - laboratory specific tables <b>Request for correction</b> Recording errors on laboratory's result forms are on laboratory's responsibility. Labquality accepts responsibility only for the result processing. Requests for correction must be notified in writing within one month of receiving the results.
<b>Comments</b> <b>Specimen 031</b> Background info: Cancer patient with prolonged urinary tract infection. The specimen contained <i>K. pneumoniae</i> , >10 <sup>6</sup> CFU/mL. Altogether 326 out of 338 laboratories reported their results before the closing date. Significant growth was detected by 99% of the laboratories. Both the expected amount of bacteria (>10 <sup>6</sup> CFU/mL) and correct interpretation of the clinical significance was reported by 94% of the participants. In all, 134 of the 136 laboratories performing identification reported their results. Eighteen of them reported that the finding does not belong to their examination selection, and they would have referred the microbe for further identification. <i>K. pneumoniae</i> was correctly named by 88% (102/116) of the participants that reported identification. According to the results, it seems like one laboratory had mixed the two specimens.	<b>Next round</b> The next Quantitative Urine Culture EQA round 1, 2014, will be carried out in March 2014. <b>Authorized by</b> EQA Coordinator, Ivyone Björnsdóttir T: +358 9 8566 8222 F: +358 9 8566 8200 i.vyone.bjornsdottir@labquality.fi <b>Scheme expert</b> M.Sc. Paivi Suominen, ISLAB Mikrobi paivi.suominen@islab.fi <b>Labquality</b> Ratamestarinkatu 11 FI-00520 Helsinki FINLAND Telephone +358 9 8566 8200 Fax +358 9 8566 8200 +358 9 8566 8281 +358 9 8764 530 info@labquality.fi www.labquality.fi © Labquality
	16

➔ Спасибо за внимание!

