

МЕДИЦИНА

28-я Международная
специализированная выставка

ПЛЮС

XX МЕЖДУНАРОДНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ФОРУМ
«КАЧЕСТВО И БЕЗОПАСНОСТЬ
ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ»

IX МЕЖРЕГИОНАЛЬНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ ПФО

«ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА – ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ»

28-29 мая 2019 года

РОССИЯ

/ НИЖНИЙ НОВГОРОД

/ НИЖЕГОРОДСКАЯ ЯРМАРКА



«Современные возможности лабораторной диагностики инфекций мочевыводящих путей: взгляд микробиолога»

Багирова Наталия Сергеевна

д.м.н., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.
Блохина» МЗ РФ

E-mail: nbagirova@mail.ru



ИМП являются серьезным заболеванием,
которое связано с высокой летальностью:

- ❖ ИМП составляют 15-30% всех НКИ [CDC, 2015]
- ❖ Ежегодно в США летальность, связанная с ИМП, >13000 случаев [Klevens RM, Edwards Jr, Richards CL, Hontan T, Gaynes R, Pollock D, Cardo D. Estimating healthcare-associated infections in US hospitals, 2002. Public Health Rep 2007; 122:160-166]
- ❖ 15-30% - бессимптомная ИМП у пациентов без установленных мочевых катетеров и почти в 100% при катетеризации [Guidelines for the Prevention and Treatment of Urinary Tract Infections (UTIs) in Continuing Care Settings, APRIL 2013]

СТОИМОСТЬ и ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ

- ❖ Примерная стоимость общего анализа мочи: тест-полоска - \$ 19, микроскопия с окраской мазка - \$15 - \$34
- ❖ Примерная стоимость посева мочи: \$ 52
- ❖ Наиболее целесообразно делать посев мочи при рецидиве ИМП или при осложненных формах ИМП, тогда как при неосложненных формах ИМП культуральный метод диагностики не рекомендуется

[UMHS Urinary Tract Infection Guideline, May 2011]

Magill SS, et al. N Engl J Med 2014; 370:1198 (183 больницы в 10 штатах США) (1):

Type of Infection	Rank	No. of Infections	Percentage of All Health Care—Associated Infections (95% CI)
Pneumonia†	1 (tie)	110	21.8 (18.4–25.6)
Surgical-site infection	1 (tie)	110	21.8 (18.4–25.6)
Gastrointestinal infection	3	86	17.1 (14.0–20.5)
→ Urinary tract infection‡	4	65 →	12.9 (10.2–16.0)
Primary bloodstream infection§	5	50	9.9 (7.5–12.8)
Eye, ear, nose, throat, or mouth infection	6	28	5.6 (3.8–7.8)
Lower respiratory tract infection	7	20	4.0 (2.5–6.0)
Skin and soft-tissue infection	8	16	3.2 (1.9–5.0)
Cardiovascular system infection	9	6	1.2 (0.5–2.5)
Bone and joint infection	10	5	1.0 (0.4–2.2)
Central nervous system infection	11	4	0.8 (0.3–1.9)
Reproductive tract infection	12	3	0.6 (0.2–1.6)
Systemic infection	13	1	0.2 (0.01–1.0)

Диагностически значимое количество микроорганизмов ?

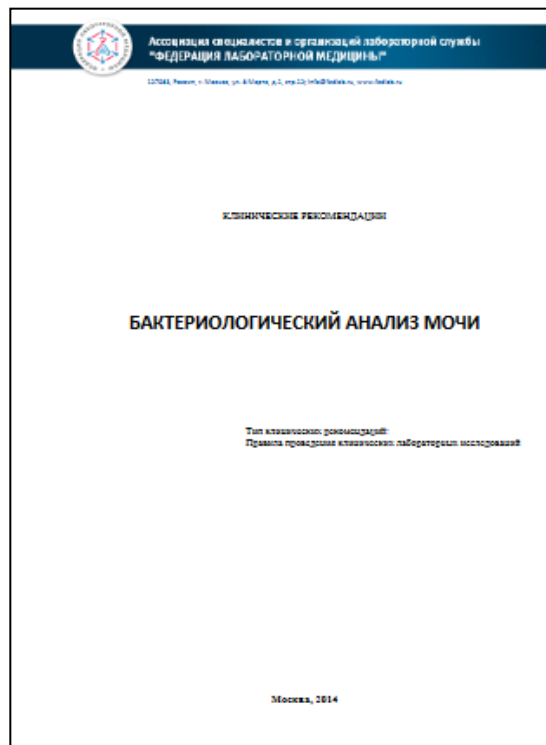
В 1960 г. Kass разработал концепцию количественной оценки значимости бактериурии (пиелонефрит беременных - $\geq 10^5$ КОЕ/мл). В последнее время стало ясно, что нет фиксированного количества микроорганизмов, которое указывало бы на значительную бактериурию относительно всех видов ИМП и при любых обстоятельствах, поэтому **Cut off point** - точка разделения нормы и патологии – изменчивая величина.

Диагностически значимой считается бактериурия при количестве бактерий в средней порции мочи:

- ❖ Неосложненный цистит у женщин – $\geq 10^3$ КОЕ/мл
- ❖ Неосложненный острый пиелонефрит у женщин - $\geq 10^4$ КОЕ/мл
- ❖ осложненные формы ИМП - $\geq 10^5$ КОЕ/мл (женщины)
- ❖ $\geq 10^4$ КОЕ/ мл (мужчины)
- ❖ через катетер - $\geq 10^4$ КОЕ / мл.
- ❖ Для бессимптомных случаев бактериурии следует получить два последовательных образца мочи с ростом идентичных микроорганизмов (по крайней мере с интервалом между ними в 24 ч.) $\geq 10^5$ КОЕ /мл.

[M. Grabe et al Guidelines on Urological Infections European Association of Urology, Appendix 16.1, 2013]

**АССОЦИАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ И
ОРГАНИЗАЦИЙ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ
«ФЕДЕРАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ»:**
Клинические рекомендации «Бактериологический
анализ мочи», Москва, 2014 г.



Титр бактерий в моче определяют на неселективных средах следующими методами (КР 2014):

- ❖ ***Несекторный метод.*** В чашку Петри с питательной средой вносят строго определенный объем исследуемого образца: пробы, полученные пункцией мочевого пузыря в объеме 10 или 100 мкл, взятые другими способами — в объеме 1 или 10 мкл. Процедуру осуществляют тарированной на определенный объем стерильной бактериологической петлей или полуавтоматическим микродозатором со сменными стерильными наконечниками. Перед посевом образцы хорошо перемешивают, но не центрифугируют;
- ❖ ***Метод секторных посевов.*** Метод стандартизирован для исследования объема мочи, равного 0,005 мл.
- ❖ ***Полуколичественные штриховой метод.*** Осуществляется с помощью тест-системы «дипстрик»

Определение степени бактериурии несекторными методами (КР 2014):

Объем посеянной 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

Определение степени бактериурии 4-х секторным методом (КР 2014):

Количество колоний в секторах				Количество бактерий в 1 мл мочи
А	Б	В	Г	
1-6	-	-	-	менее 1000
8-20	-	-	-	3000
20-30	-	-	-	5000
30-60	-	-	-	10000
70-80	-	-	-	50000
100-150	5-10	-	-	100000

нельзя сосчитать	20-30	-	-	500000
„	40-60	-	-	1 млн.
„	100-140	10-20	-	5 млн.
„	нельзя сосчитать	30-40	-	10 млн.
„				100 млн.

**АССОЦИАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ И ОРГАНИЗАЦИЙ
ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ «ФЕДЕРАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ
МЕДИЦИНЫ»: Клинические рекомендации
«Бактериологический анализ мочи», Москва, 2014 г. (1)**

Оценка патогенного потенциала выделенных культур:

- I. Первичные возбудители ИМП (группа I):** *E. coli*, *S. saprophyticus*, лептоспиры, сальмонеллы и микобактерии
- II. Вторичные возбудители ИМП (группа II):** *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, *Citrobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Serratia spp.*, *C. urealyticum*, *Haemophilus spp.*, *S. pneumoniae*.
- III. Сомнительные возбудители ИМП (группа III):** КНС(кроме *S. saproph.*), *S. agalactiae*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*.

Лактобактерии, «зеленящие стрептококки», бифидобактерии, гарднереллы, коринебактерии – не имеют диагностического значения (?)

**АССОЦИАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ И ОРГАНИЗАЦИЙ
ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ «ФЕДЕРАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ
МЕДИЦИНЫ»: Клинические рекомендации
«Бактериологический анализ мочи», Москва, 2014 г. (2)**

Способ взятия мочи	Симптомы ИМП	Объем мочи (мкл)	Обнаружение патог. бактерий		Диагностичес ки значимый титр (КОЕ/мл)
			группа	Кол-во видов	
Средняя порция при свободном мочеиспуска нии	+	1	I	1-2	10^3
			II	1	$10^3(\text{♂})$
			II	1	$10^4(\text{♀})$
			II	2	10^5
			III	1	10^5
	-	1	I-III	1-2	10^5
	+	10	I	1	10^2

АССОЦИАЦИЯ СПЕЦИАЛИСТОВ И ОРГАНИЗАЦИЙ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ «ФЕДЕРАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ»: Клинические рекомендации

«Бактериологический анализ мочи», Москва, 2014 г.

Интерпретация результатов(3)

Способ взятия мочи	Симптомы ИМП	Объем мочи (мкл)	Обнаружение патог. бактерий		Диагностичес ки значимый титр (КОЕ/мл)
			группа	Кол-во видов	
Надлобковая пункция	±	100	I-III	1-2	10 ²
Цистоскопия, катетеризация	±	10	I-III	1-2	10 ²
Постоянный катетер	+	1	I-III	1-3	10 ⁴
	-	1	I-III	1	10 ⁵

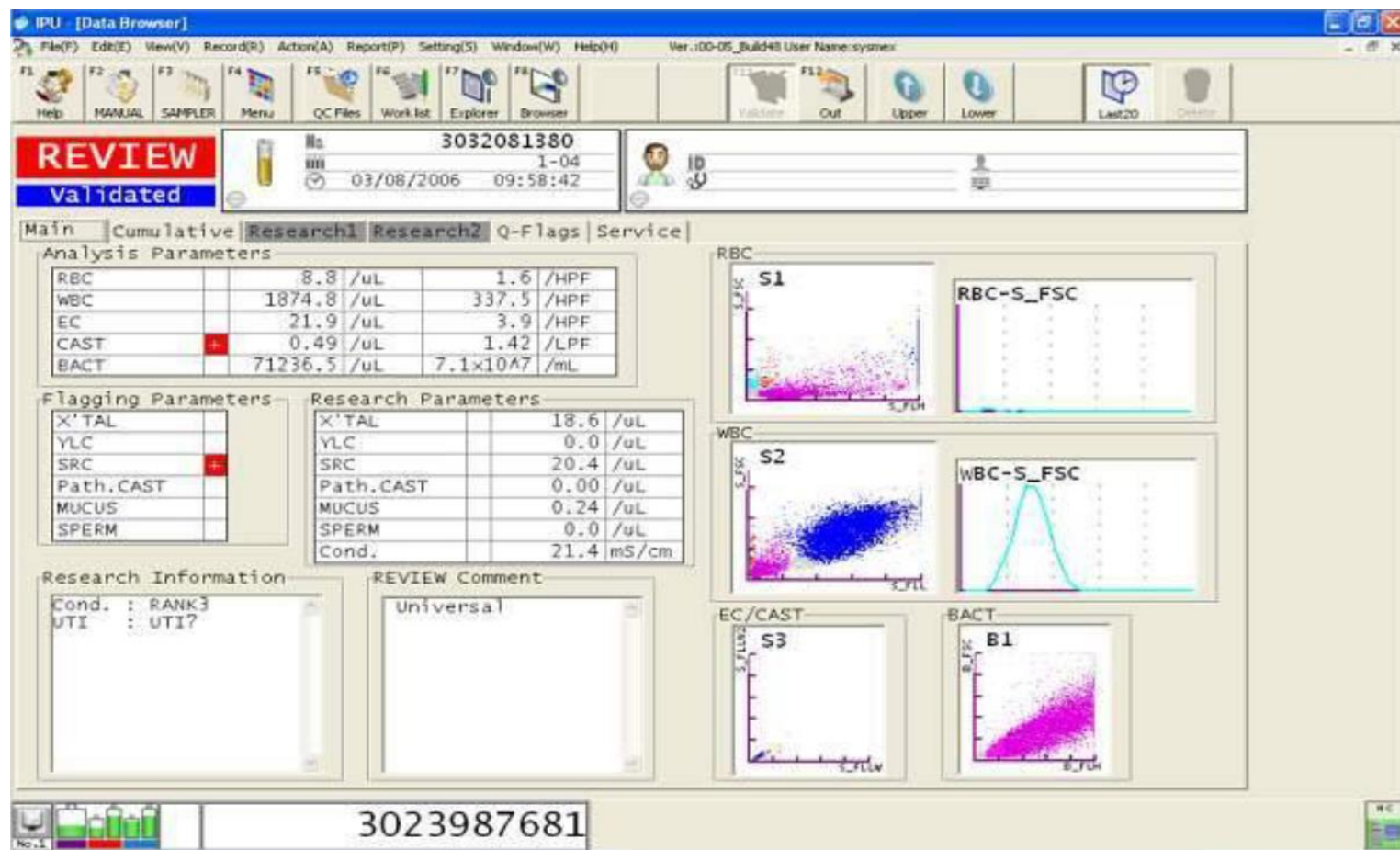
Анализатор мочи UF 500 і в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» с сентября 2012г.



Характеристики приборов

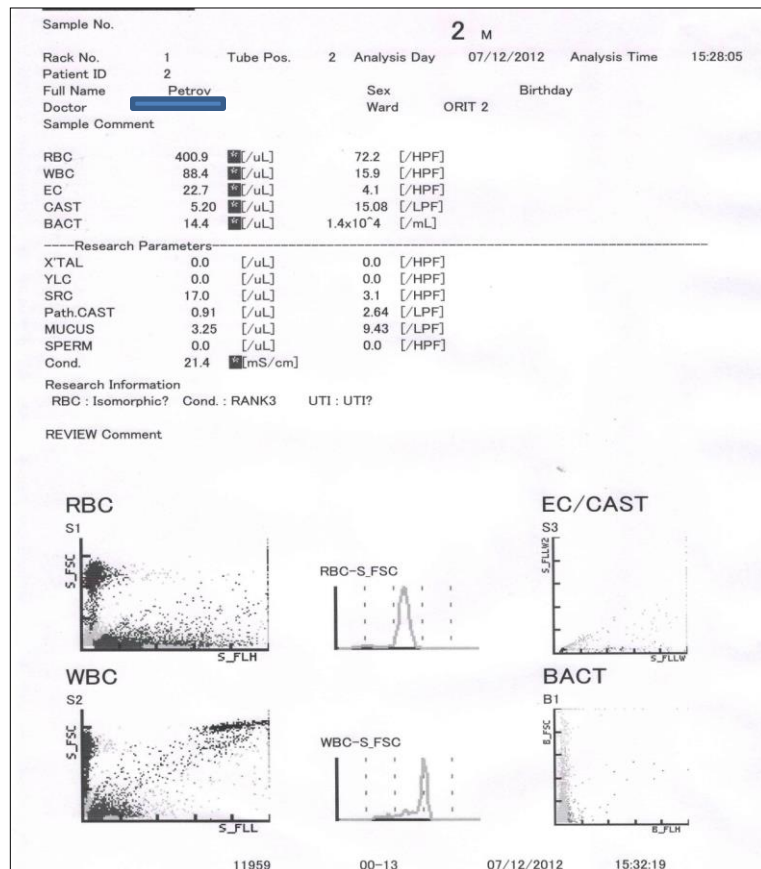
	Sysmex UF 500i	Sysmex UF 1000i
в нормальном режиме	60 образцов/час	100 образцов/час
при точном определении бактерий	45 образцов/час	80 образцов/час
Максимальная загрузка проб	50/1 проба каждые 16 секунд	50/1 проба каждые 16 секунд
Объем образца	4 мл -штатив(1,2) 1 мл –ручной (0,8)	4 мл -штатив(1,2) 1 мл –ручной (0,8)
память	5000обр(+графики) 5000 файл пациен.	10000обр(+граф) 5000 файл пациен.

Systex (Вид монитора с полученными данными)+ посев мочи



Посев мочи: *Klebsiella pneumoniae* 10^5 КОЕ/мл; дрожжи - 0

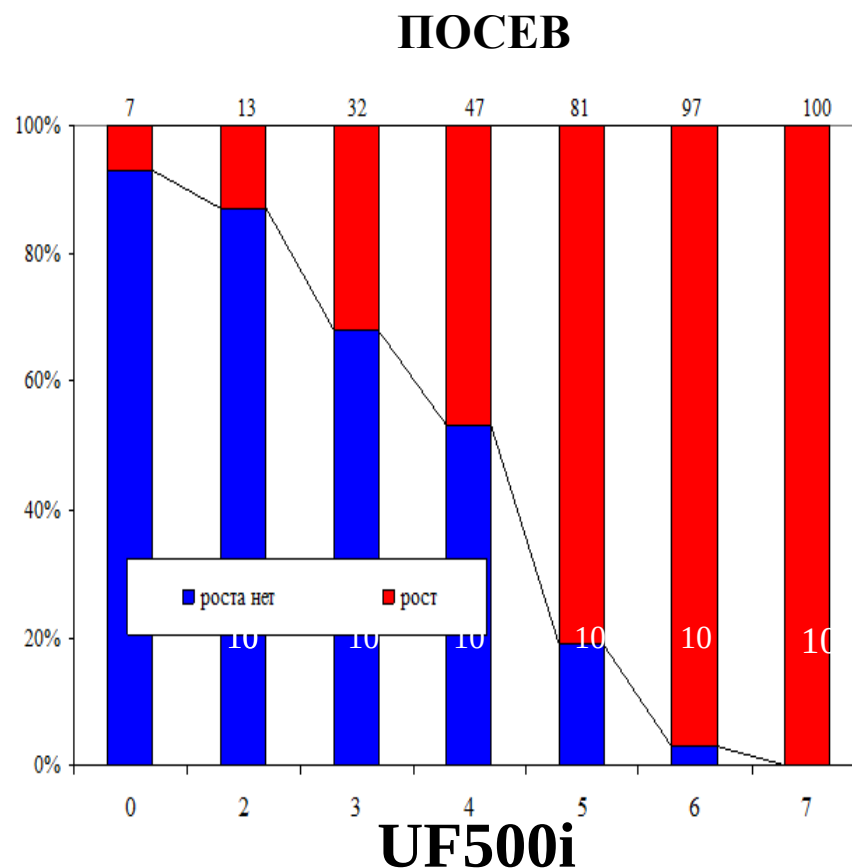
Ответ после загрузки пробы мочи на UF 500 i



Научно-диагностическая лаборатория НЦАГиП		Анализ мочи	
№ пробы:	2	Штатив: 1	Пробирка: 2
Ф.И.О.: Petrov		Sysmex UF-500i	07/12/2012 15:28:05
		Муж - Жен	Дети: Мал - Дев
Лейкоциты	88.4 кл/мкл	(0 - 9,2 - 39,0 кл/мкл)	(0 - 5,8 - 9,2 кл/мкл)
Эритроциты	400.9 кл/мкл	(0 - 13,1 - 30,7 кл/мкл)	(0 - 11,6 - 19,1 кл/мкл)
из них: изменённых	кл/мкл		
неизменённых	кл/мкл		
лизированных	кл/мкл		
Эпителий плоский	22.7 кл/мкл	(0 - 5,7 - 45,6 кл/мкл)	(0 - 4,8 - 7,7 кл/мкл)
Эпителий перех./почечный	17.0 кл/мкл	(0 - 4,08 - 5,97 кл/мкл)	(0 - 3,8 - 4,5 кл/мкл)
Цилиндры	5.20 кл/мкл	(0 - 2,2 - 2,4 кл/мкл)	(0 - 0,27 - 0,25 кл/мкл)
Цилиндры патологические	0.91 кл/мкл	(0 - 0,523 - 0,667 кл/мкл)	(0 - 0,17 - 0,17 кл/мкл)
Бактерии	14.4 кл/мкл	(0 - 11,4 - 385,8 кл/мкл)	(0 - 3,4 - 34,8 кл/мкл)
Дрожжеподобные клетки	0.0 кл/мкл	(0 - 0 - 0,019 кл/мкл)	(0 - 0 - 0 кл/мкл)
Слизь	3.25 кл/мкл	(0 - 7,14 - 4,82 кл/мкл)	(0 - 0,6 - 0,6 кл/мкл)
Кристаллы	0.0 кл/мкл	(0 - 0,27 - 0,304 кл/мкл)	(0 - 0 - 0,1 кл/мкл)
Сперматозоиды	0.0 кл/мкл		
Проводимость мочи	21.4 мСм/см		
Комментарий:			

Связь показателей анализатора UF 500i и результатов культурального исследования мочи (только бактерии, монокультура)[Багирова Н.С., с соавт.. Ж. «Медицинский алфавит» №23(286), т. 4 «Современная лаборатория», стр 23-28, 2016 г.]

- ❖ 830 образцов (10.2012-02.2015), исключены из анализа данных все образцы мочи, поступившие от больных с нейтропенией
- ❖ Итого 502 образца исследовали в 2этапа:
 - I - анализатор(UF-500i Sysmex)
 - II -посев
- ❖ 197 штаммов



Сравнение тестирования образцов мочи на анализаторе UF 500i (SYSMEX - кл/мл) и культурального исследования мочи (Посев мочи - КОЕ/мл)(бактерии, монокультура) [Багирова Н.С., с соавт.. Ж. «Медицинский алфавит» №23(286), т. 4 «Современная лаборатория», стр 23-28, 2016 г.]

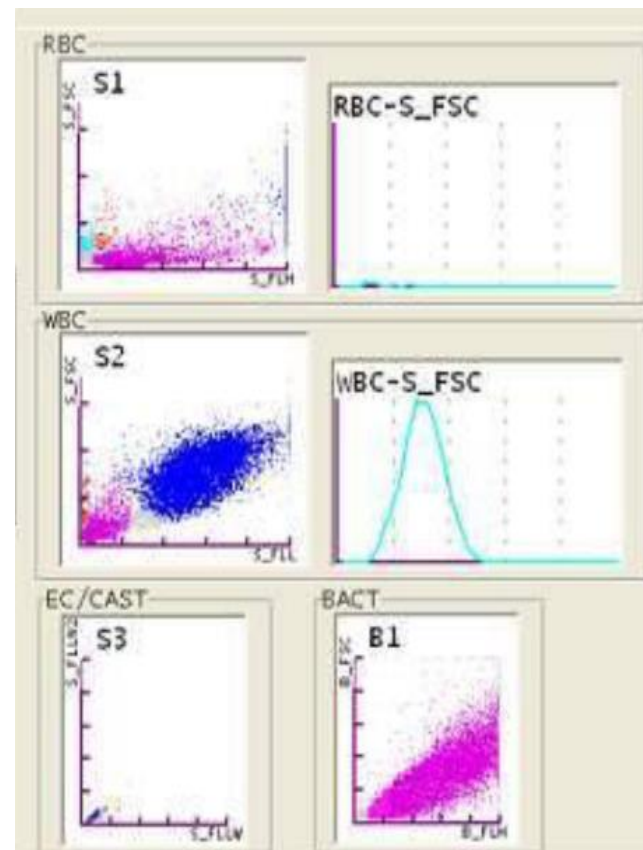
Число образцов	SYSMEX	Посев мочи					
		Число образцов без роста			Число образцов с ростом		
		всего	L↓	L↑	всего	L↓	L↑
113	0	105	93	12	8	7	1
53	10 ²	46	30	16	7	6	1
146	10 ³	99	56	43	47	20	27
89	10 ⁴	47	8	39	42	10	32
37	10 ⁵	7	0	7	30	0	30
39	10 ⁶	1	0	1	38	2	36
25	10 ⁷	0	0	0	25	1	24
Всего	502	305(60,7%)	187	11	197	46	151

Результаты сравнения (монобактериурия), выводы:

- ❖ SYSMEX – бактерии 0: посев - роста нет в 92,9%, причем 88,5% при L ↓
- ❖ SYSMEX - бактерии 10^{2-7} , посев – рост в 48,6%
- ❖ SYSMEX – 10^{0-3} рост 19,9% (контаминация)
из них при L ↑ 46,8% против 10^{5-7} рост 92,1%
из них L ↑ 96,8% ($p < 0,0001$)

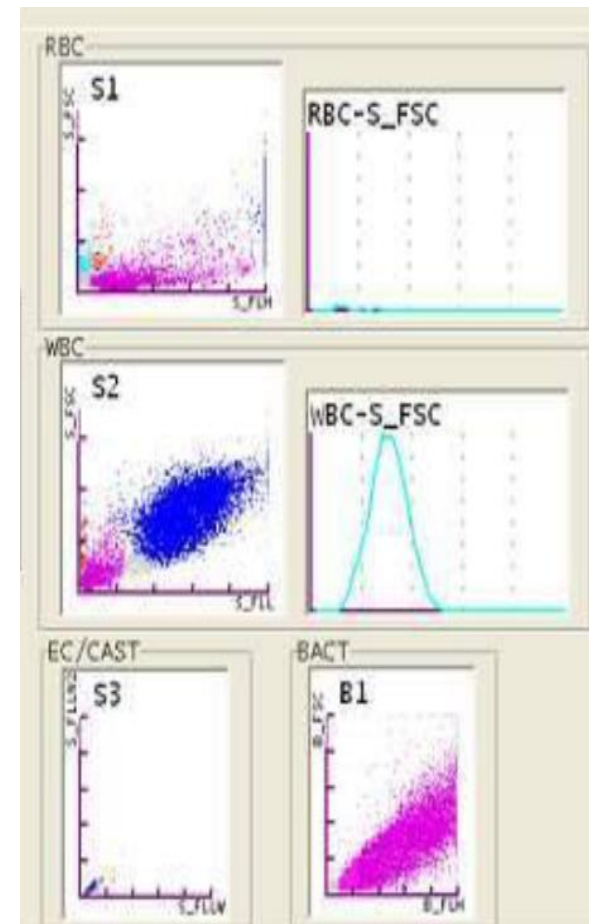
При работе на анализаторе Sysmex UF 500i/1000i микробиолог должен помнить [1]:

- ❖ Кл/мл – КОЕ/мл; Скатеро- и гистограмма – анализировать
- ❖ **V1(сиреневый кластер, бактерии)** Угол наклона мал, кластер сконцентрирован в узкой зоне – грам(-). Точки расположены плотно и их распределение вдоль биссектриссы - грам(+)
- ❖ **Серый кластер:** высокий дебрис –невозможен точный подсчет клеток (сбор-посев>30 мин., а/б) – повторить, разведение мочи
- ❖ **Плоский эпителий (коричневый кластер)** - много- индикатор контаминации образца, м.б. вследствие катетеризации, предракового состояния
- ❖ **Проводимость** $\leq 3,0$ или ≥ 39 – осмотическое давление меняет размер и форму клеток, что ведет к некорректной классификации



При работе на анализаторе Sysmex UF 500i/1000i микробиолог должен помнить [2]:

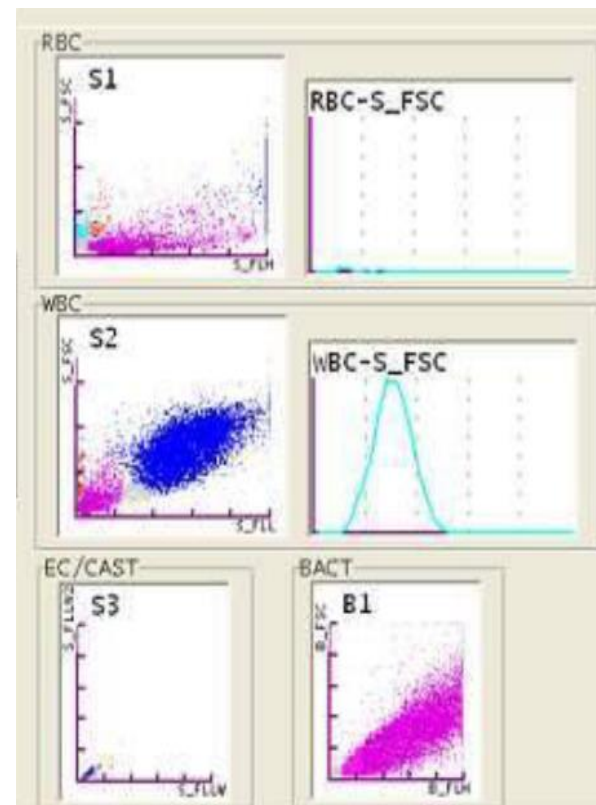
- ❖ S 1, эритроциты красный кластер:
- ❖ Если размер эритроцитов соответствует размеру дрожжевых клеток, прибор может ошибочно отнести эритроциты к дрожжевым клеткам
- ❖ Если и дрожжей и эритроцитов большое число – возможно перекрытие кластеров (один канал). Дрожжи (зеленый кластер) следует оценивать на скатерограмме S1-S2
- ❖ Если и бактерий, и эритроцитов большое число – результаты достоверны (так как кол-во бактерий определяется в отдельном канале, поэтому результат подсчета достоверен)



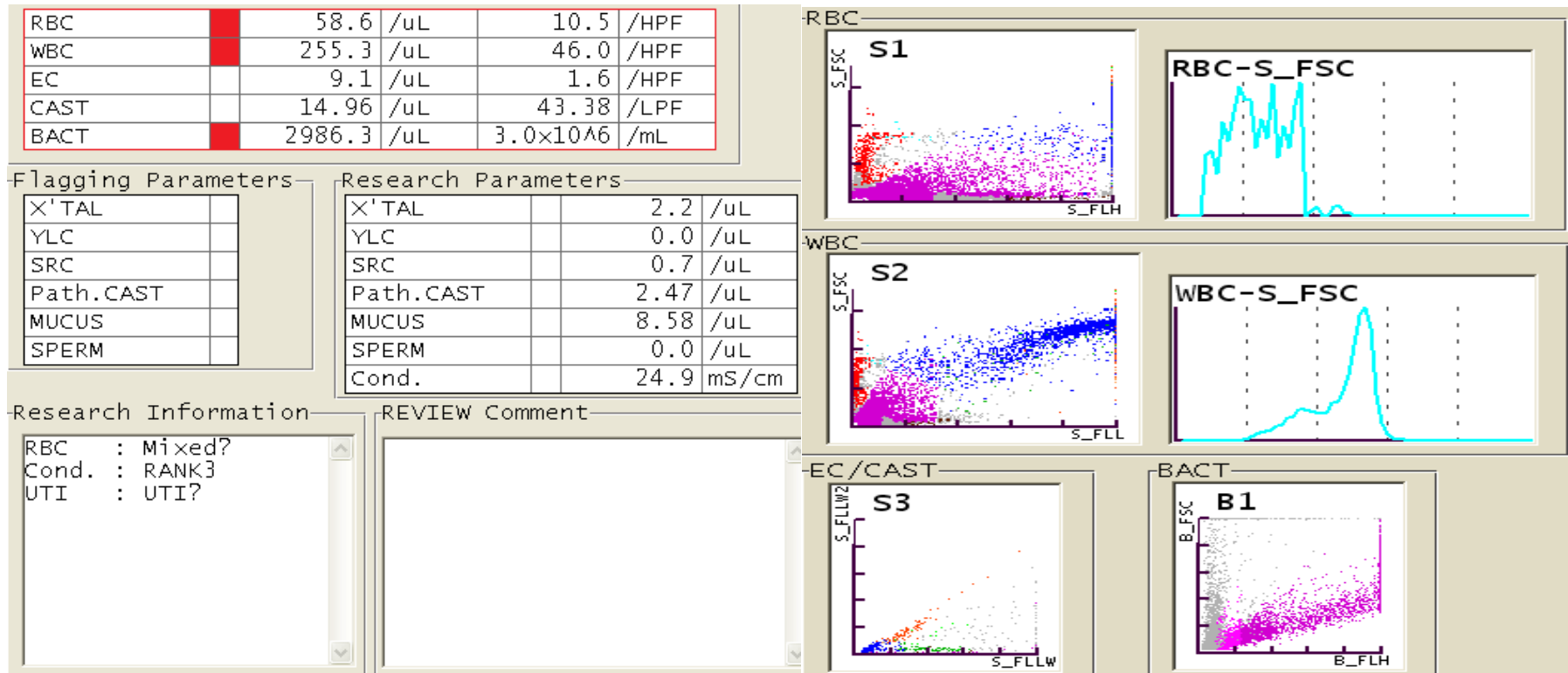
При работе на анализаторе Sysmex UF 500i/1000i микробиолог должен помнить [3]:

S 2, лейкоциты синий кластер:

- Если пик (см. гистограмму) смещен влево – преобладают моноядерные лейкоциты (при большом количестве м.б. приняты за дрожжи), вправо – сегментоядерные (нейтрофилы)
- Нейтропения, агранулоцитоз – нельзя ориентироваться на число лейкоцитов
- Лейкоцитурия может быть не только при ИМП, но и при гломерулопатии, нефропатии, интоксикации, обструкции мочевых путей и иных патологиях
- Трихомонады по размерам могут быть сходны с лейкоцитами и прибор ошибочно может принять их за лейкоциты



Пациент муж. П., 42 г., отд. х\т и комб. методов леч., рак прямой к-ки III стад., FOLFOX 6 (оксалиплатин, лейковорин, 5-фторурацил). Препараты платины могут оказывать тератогенное, кардиотоксическое, нейротоксическое и нефротоксическое действие. При применении с 5-фторурацилом наблюдается синергизм цитотоксического действия. Со стороны мочевыделит. системы: часто - гематурия, дизурия. Х\т, лихор. до 38 °С, дизурия, а/б ципробай б/эфф. Посев: *E. faecalis* 10⁶ КОЕ/мл. Амоксицилл/клавул. С клинич. эфф. ч/з 3сут



**Пациент жен., С., 58 лет, отд. Нейрохир, злокач. глиобластома.
Комбинир. лечение: л/т с послед. адъювантной монотерапией
(темодал). Лихор. 38,6 °С, пиелонефрит? А/б нет.**

**Посев: K. pneumoniae 10⁷ КОЕ/мл. Ципрофлоксацин - клинич.
эфф. ч/з 2сут**

Analysis Parameters

RBC		22.2 /uL	4.0 /HPF
WBC		2427.2 /uL	436.9 /HPF
EC		4.0 /uL	0.7 /HPF
CAST		0.13 /uL	0.38 /LPF
BACT		18789.2 /uL	1.9x10 ⁷ /mL

Flagging Parameters

X'TAL	
YLC	
SRC	
Path.CAST	
MUCUS	
SPERM	

Research Parameters

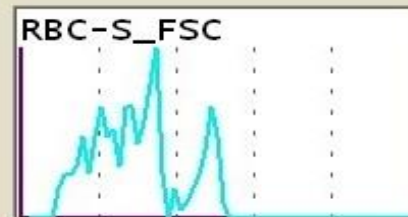
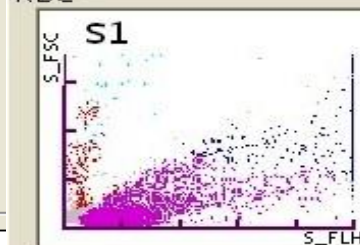
X'TAL		3.3 /uL
YLC		0.0 /uL
SRC		0.1 /uL
Path.CAST		0.00 /uL
MUCUS		0.00 /uL
SPERM		0.0 /uL
Cond.		19.2 mS/cm

Research Information

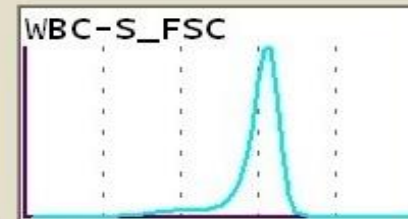
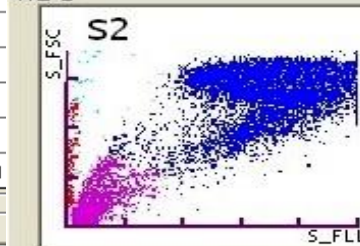
Cond. : RANK3
UTI : UTI?

REVIEW Comment

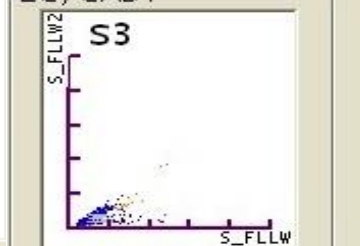
RBC



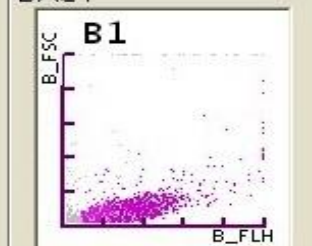
WBC



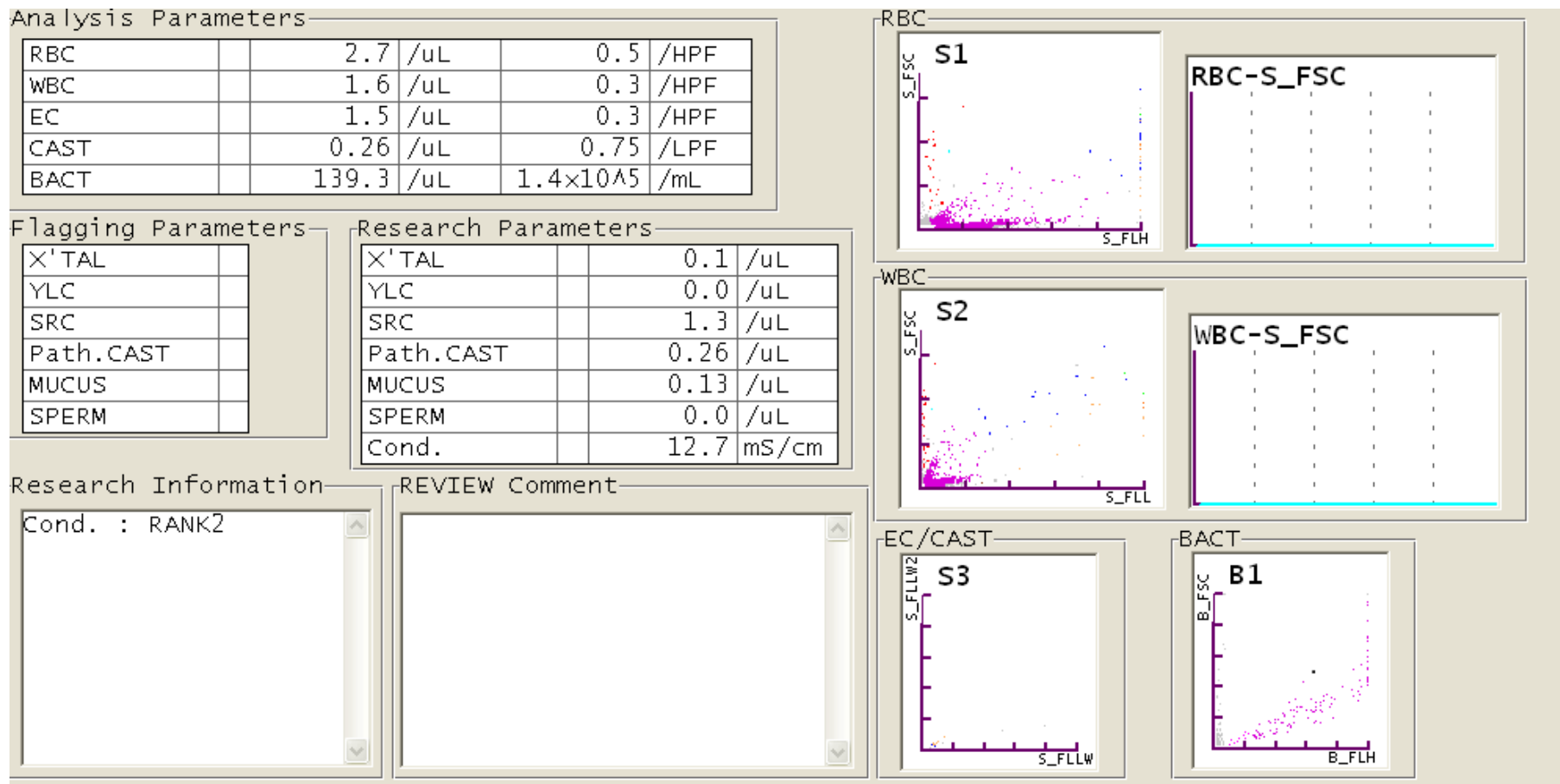
EC/CAST



BACT

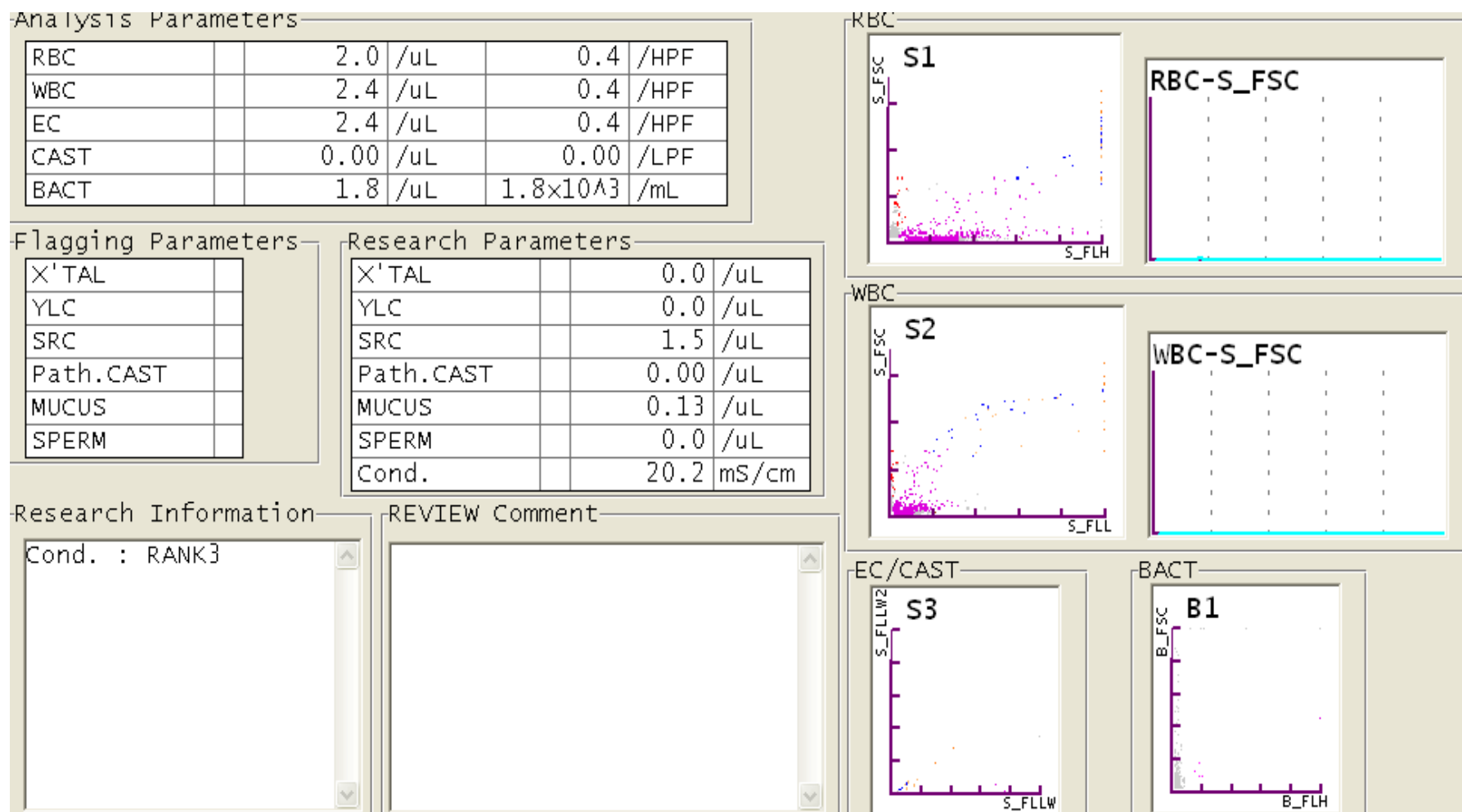


**Пациент жен. 18 лет, отд. гинекологии, рак ш/матки II ст., п/о 3 сут.,
лихор. до 38,1°C однократно, дизурия. Цистит? Цефепим 2 дня б/эфф.
Посев: *E. faecalis* 10⁵ КОЕ/мл. Контаминация? Нарушения на
преаналитическом этапе (моча стояла в отделении 3 час. перед
доставкой в лабораторию). Повторно – р. нет.**



Пациент жен., П., 63 года, отд. Гематологии, ОМЛ, х/т индукция ремиссии, ЛНГ до 37,8 °С, а/б нет, нейтропении нет

Посев: *S. epidermidis* 10² КОЕ/мл, контаминация



Заключение (1):

- ❖ Лейкоцитурия + клиника ИМП
- ❖ Посев(+): SYSMEX – $\geq 10^5 + L \uparrow$
- ❖ Посев(+): ФН+ клиника ИМП = всегда
- ❖ Посев(-): SYSMEX $10^{0-3} + L \downarrow$
- ❖ SYSMEX $10^{0-4} + L \uparrow$: повторно образец $\pm$ посев
- ❖ Оптимально до а/б терапии
- ❖ Соблюдение правил сбора мочи (контейнер, асептика и антисептика) и транспортировки (доставка в течение очень короткого времени – не > 30 мин)
- ❖ **Кластер грибов** (даже если прибор показывает 0) – посев на агар Сабуро при необходимости

Заключение (2):

- ❖ Короткое время получения результата позволяет эффективно использовать UF-500i в качестве первого этапа диагностики бактериурии, что повышает **эффективность рабочего процесса** на **23%-80%** в зависимости от выбранной *cut off point*
- ❖ **Отрицательный результат** (отсутствие бактерий и/или грибов, лейкоцитурии, эритроцитурии) **I –го этапа диагностики бактериурии на анализаторе можно считать обоснованием для выдачи отрицательного ответа и не делать посев мочи**
- ❖ В связи с этим исключены ненужные затраты на электроэнергию, расходные материалы, имеет место значительная экономия времени лаборантов и врачей, а также резкое сокращение времени выдачи окончательного ответа.

Заключение (3):

- ❖ Предложенный нами алгоритм не исключает обязательный **контроль над преаналитическим этапом** (сбор, хранение, доставка биоматериала)
- ❖ Всегда следует принимать во внимание наличие или отсутствие **терапии антимикробными препаратами** в настоящий момент либо в течение нескольких дней перед исследованием мочи, так как антибиотики накапливаются в тканях пациента и могут подавлять рост бактерий даже после отмены терапии в течение определенного времени (иногда в течение нескольких суток)
- ❖ **Более низкие значения *cut off point*** допустимы у пациентов с хроническими заболеваниями и катетер-ассоциированными инфекциями

Заключение (4):

Таким образом, ответ на вопрос:

« Что считать клинически значимой бактериурией? »

зависит от нескольких факторов, связанных как с основным заболеванием, с состоянием пациента, так и от принятых в той или иной стране рекомендаций по оценке полученных данных

СПАСИБО!

