

Микробиолошка дијагноза

—

можности, цели, проблеми и
дилеми

Дијагноза на уринарни инфекции

Проф д-р Милена Петровска

Институт за микробиологија и паразитологија,
Медицински факултет, УКИМ, Скопје

Содржина

- Микробиолошка лабораторија
 - Цели
 - Микробиолошки методи
 - Директна и индиректна микробиолошка дијагноза
 - Примерок за микробиолошко испитување
 - Процес на обработка
 - Проблеми и дилеми
- Основни факти за уринарните инфекции
 - Најчести предизвикувачи
- Микробиолошка дијагноза
 - Толкување на резултатите
 - Стерилна уринокултура
 - Контаминирана урина
 - Асимптоматска бактериурија

Микробиолошка лабораторија

Цели

- Медицинска микробиологија
 - Клиничка микробиологија
 - Бактериологија
 - серологија
 - Врурусологија
 - Микологија
 - Протозоологија и хелминтологија
 - Молекуларна микробиологија
- М. на храна
- Индустриска м.
- М. на земја
- Биохемиски инженеринг
- Генетски инженеринг
- Микробен геном
-
- Помага во етиолошка дијагноза на инфекции
 - идентификација, изолација, испитување на осетливост и терапија на патогени микроорганизми и корисни микроорганизми (габи, некои бактерии)

МИНАТО

Што се случи претходно?

СЕГАШНОСТ

Што е водечко денес?

ИДНИНА

Што претстои ?

Временска оска

_____1600_____1700_____1800_____1900_____

Микроскопски испитувања

1677 Antony Leeuwenhoek

1882 Paul Ehrlich

1884 Christian Gram

Теорија на „болест предизвикана од микроорганизам“ (Germ Theory of Disease)

1860 Louis Pasteur (размножување)

1867 Joseph Lister (асепса)

1876 Robert Koch (антракс)

Одбрана и контрола на микроорганизмите

- 1796 Edward Jenner (вакцина)
- 1850 Ignaz Semmelweis (миење раце)
- 1885 Louis Pasteur (вакцина)
- 1900 Walter Reed (вектори)

Вирусологија

- 1892 Dmitri Iosifovich Ivanovski

Молекуларни методи

- 1977 W. Gilbert & F. Sanger (секвенционирање на ДНК)
- 1983 Kary Mullis (ПВР)
- 1995 TIGR (комплетен геном)

Нови микроорганизми – стари болести

Стари микроорганизми - **НОВИ** имиња

- ***Helicobacter pylori*** (порано *Campylobacter pyloridis*, идентифицирана во 1982 by Barry Marshall и Robin Warren)
- ***Borrelia burgdorferi*** наречена според Willy Burgdorfer, откриена 1982; поврзана со Лајмска болест и non-Hodgkin lymphom; трет микроорганизам комплетно секвенциран во 1995 (по *Haemophilus influenzae* и *Mycoplasma genitalium*)
- ***Burkholderia cepacia*** откриена од Walter Burkholder во 1949 година, опишана како хуман патоген во 1950-тите; во 1980-тите поврзана со цистична фиброза
- ***Legionella pneumophila*** откриена 1977 година по епидемија на пнеумонија во хотел во Филадельфија, 1976 година
- **Ebola virus** откриен 1977 година како нов сој на Marburg virus; променето името во 2000 година во Zaire Ebola virus, а во 2005 во Zaire ebolavirus; во 2010 година вратено претходното Ebola virus;

Микробиолошки методи

Според микроорганизми што се бараат

- Бактериолошки
- Миколошки
- Вирусолошки
- Протозоолошки
- Хелминтолошки
 - Серолошки
- Биолошки
- Молекуларно (нуклеотидни секвенци, протеини . . .)

Директна и индиректна микробиолошка дијагноза

Директна дијагноза

- **Микроскопски**
 - Нативни препарати
 - Обоени со бактериолошки бои
 - Обоени – цитолошки бои
 - Електронска микроскопија
- **Културелно**
 - Бактерии (култивабилни)
 - Фунги (квасници и филаментозни ф.)
 - Испитување на осетливост
 - Идентификација (биохемиски, физиолошки тестови)
- **Докажување на антиген** (антиген-антитело реакција)
 - Директна имунофлуоресценција (ДИФ)
 - Директна ЕЛИСА
- **Докажување на нуклеинска киселина** (молекуларни методи)
 - Хибридизација
 - Амплификација
 - Western blot, Sautern blot . .

Индиректна дијагноза

- **Имунолошка реакција на домаќинот кон антигени** на микроорганизмот (антиген-антитело реакции за докажување на антитела) – хуморален имунитет
 - Аглутинација (ко-аглутинација)
 - Преципитација
 - Хемаглутинација
 - Неутрализација на токсини / ензим
 - Реакција на врзување на комплемент (РВК)
 - Индиректна имунофлуоресценција (ИИФ)
 - ЕЛИСА . . .

Клучено: одбирање на примерок

- Сомнителен случај за:
 - бактериска, вирусна, габична, протозоолошка инфекција
- Локализација на инфекција
 - Респираторна – спутум само ако кашла пациентот; искашлок – директен препарат за леукоцити/епителни клетки
 - Цревна – дијареа, променета столица,
 - Уринарна – леукоцити во седиментот, собирање со спонтан микрција по тоалета
 - Сепса / бактериемија – во период на треска и покажување на температура
- Стадиум на болест
 - инкубација,
 - локализирана инфекција,
 - генерализација,
 - органманифестација,
 - реконвалесценција

Докторот кој упатува:

- одбира,
- испраќа примерок за микробиолошко испитување,
- нагласува за која болест односно за кој

микроорганизам се сомнева, според клиничките манифестации

- Според тие податоци:

- примерокот се обработува (засадува) на најсоодветни хранителни подлоги за бараниот микроорганизам
- се обезбедуваат оптимални лабораториски услови за култивација
- се избира тестот / методот

Одговарање и толкување на резултатот:

Според тоа:

- Што се бара (микроорганизам, примерок, метод)
- Што се очекува да се најде
- Што е добиено
 - реален етиолошки агенс
 - контаминиран примерок
 - колонизирачки микроорганизам
 - тешко за микробиологот без клинички и податоци за пациентот
- Избот на терапија

Примероци за микробиолошка обработка

Примарно стерилни примероци

- Крв
- Ликвор
- Пункрат / ексудат

- Ракување и транспорт:
 - Да не се контаминира
 - Брзо, да не угине микрорганизмот

- Чување на примерок:
 - Хемокултура – термостат или собна температура
 - Ликвор – поблиску до 37°C
 - Пунктат – во шприц

Контаминирани примероци

- Брисеви од:
 - респираторен тракт
 - генитален тракт
 - Кожа
 - Чување ризично (се сушат, угинуваат бактериите)

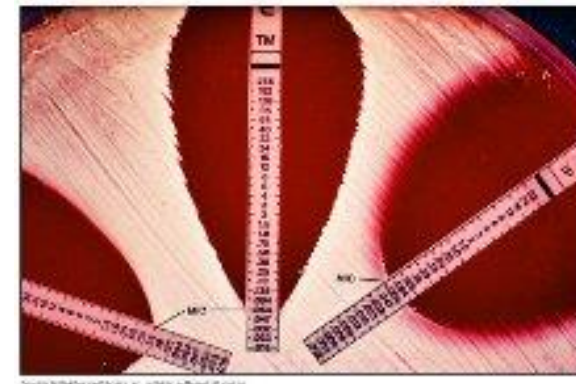
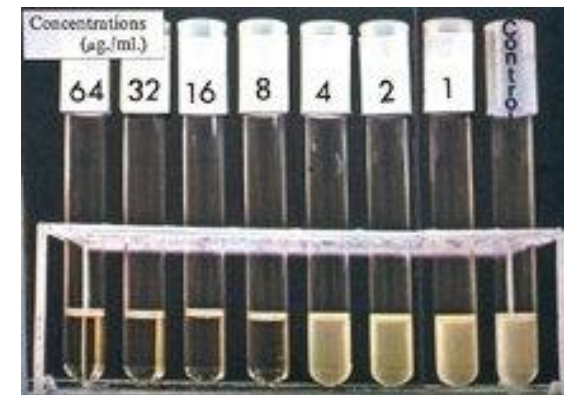
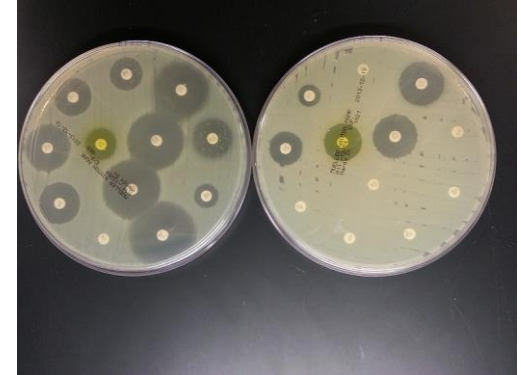
- Спутум
 - Секогаш е контаминиран орофарингеално,
 - проценка на квалитетот за микробиолошко испитување – директен препарат (леукоцити / епителни клетки / бактерии); макроскопски (плунка во искашлок)

- Урина
 - Полуквантитативна,
 - Најдобро пред антибиотска терапија
 - Се чува во фрижидер ако е подолго од 2 часа

- Фецес
 - Да не е помешан со урина и со околината

Директни микробиолошки методи

- Микроскопски
 - Нативен препарат
 - Боени препарати
- Културелни испитувања
 - Антибиограм- само на културелно изолиран МО
 - Диск-дифузионен (рутински)
 - Дилуционен – (МИК и МБК)
 - Агар дилуционен
 - Бујон дилуционен
 - Е-тест
 - Други (апарати ВИТЕК)



Директни микробиолошки методи

- Серолошки (антиген / антитело реакции):
 - Антигени на микроорганизми во примерок
 - Нема достапни тестови за сите микроорганизми и
 - Не се разликува носителство од клиничка сигнификантност
- Молекуларни: PCR, RealTime PCR
 - високо специфични и сензитивни,
 - скапи методи

Брзи тестови за докажување на антиген во примерок

<i>микроорганизам</i>	<i>примерок</i>	<i>метод за докажување</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i> (гр. А според Lendsfild)	брис од грло	латекс аглутинација
<i>Streptococcus agalactiae</i> (гр.Б според Lendsfild)	урина, ликвор (неонатална сепса, менингит)	латекс аглутинација
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ликвор	латекс аглутинација
<i>Haemophilus influenzae</i> тип <i>b</i>	ликвор, урина	латекс аглутинација
<i>Neisseria meningitidis</i> групи А, С, Y, W135 и В	ликвор	латекс аглутинација
<i>Cryptococcus neoformans</i>	ликвор, серум	латекс аглутинација
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	спутум	бабрење на капсула
Вируси (различни)	биооптичен материјал	имуно-електронска микроскопија
<i>Chlamydia trachomatis</i>	брис од уретра, од цервикс, од коњуктива	директна имунофлуоресценција
<i>Legionella pneumophila</i>	урина	латекс аглутинација

Индиректни микробиолошки методи

ИгМ и ИгГ антитета во серум (и други примероци)

- Брзи резултати - за неколку часа
 - високо специфични
 - високо сензитивни
 - специфичните ИгМ антитета - за акутни актуелни инфекции
 - ИгА антитета за перзистентни микроорганизми
- повторувани инфекции – динамика на титарот на ИгГ антитета или авидитет (старост на ИгГ антител)

Во минатиот век -

- вештачки хранителни подлоги – се подготвуваа во секоја лабораторија посебно,
- дијагностикуми со добро развиени бактериски антигени - сопствено приготвување во лабораторијата,
- имунизација на експерименталните животни (дијагностички серуми) - локалниот вивариум.

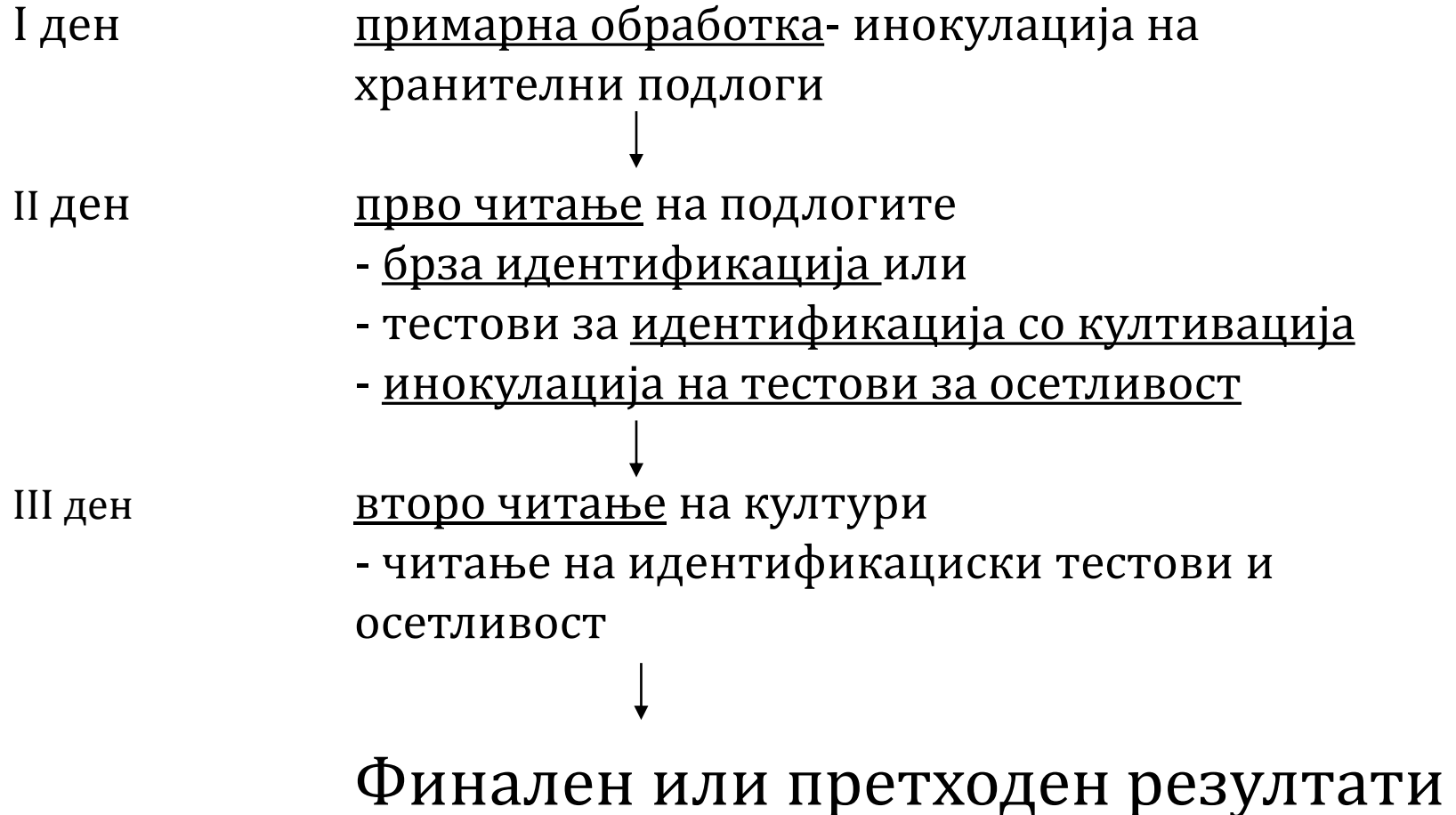
- главно бактерии и некои фунги,
- вируси - резервирани за посебно опремени лаборатории

- Резултати: за најмалку два до три дена, а за одредени микроорганизми дури 5-10 дена, 6-8 недели.

Денес -

- комерцијално достапни хрантелните подлоги, разлеаните во петриеви плочи и флакони, спремни за употреба (ready for use),
 - високо стандардизиран квалитет и
 - строго дефиниран рок на употребливост.
 - хромогени подлоги,
- идентификација на микроорганизмот или негови токсините
 - стрипови или кертрици, со нанесени антителиа или антигени, докажување на бараното - за неколку минути
- Апарати (претходно програмирани) –
 - примарна обработка:
 - со припрема на микроскопски препарати,
 - разлевање на подлоги
 - инокулира хранителни подлоги,
 - распоредува за соодветна инкубација

Работен процес во бактериолошка лабораторија (без специфични инструменти)



Работен процес во бактериолошка лабораторија

(со специфични инструменти)

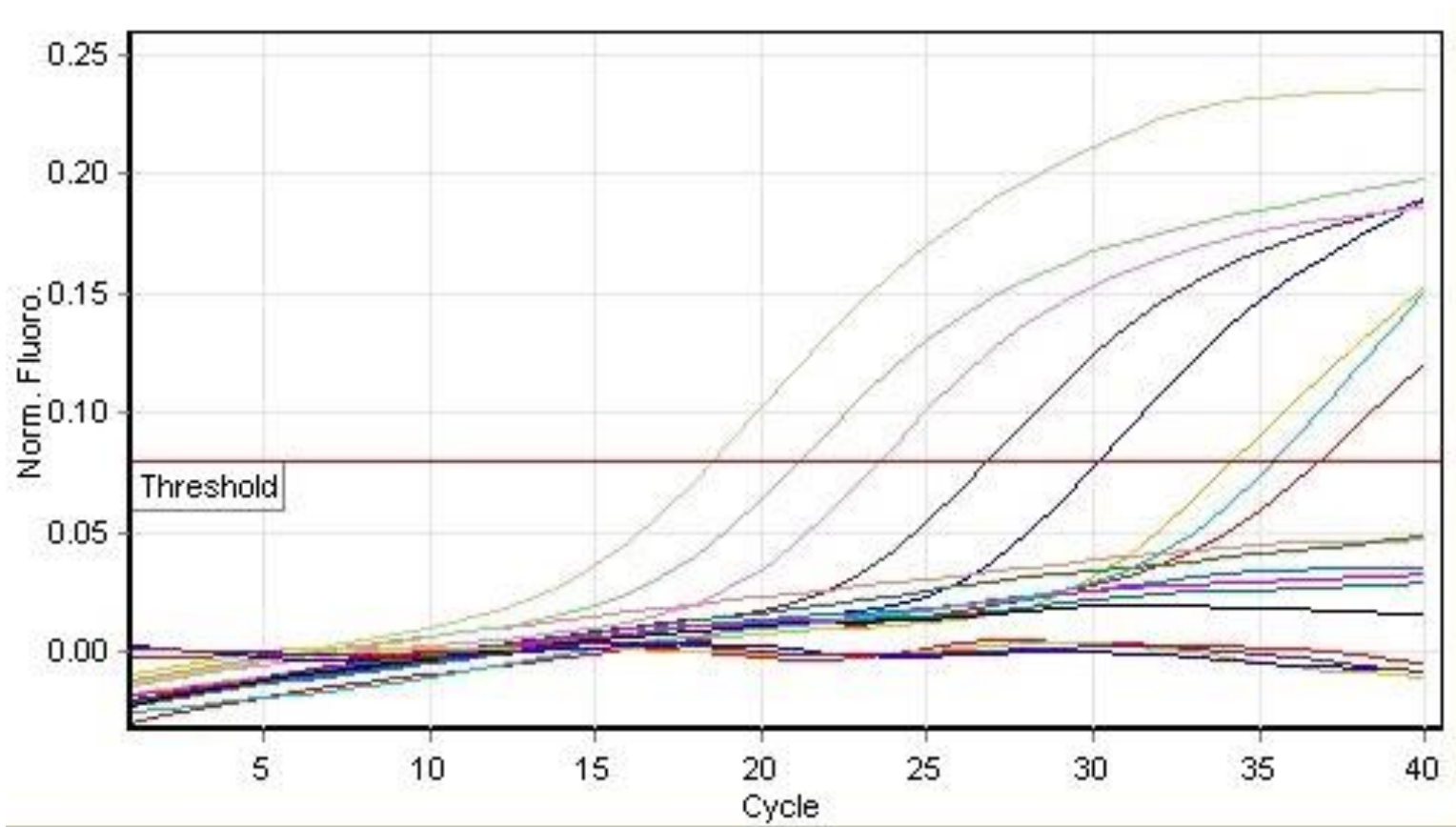
I ден	примарна обработка- инокулација на хранителни подлоги
II ден	<u>наутро:</u> <ul style="list-style-type: none">- прво читање на подлогите- инокулација на специфични картички (за идентификација, за осетливост, други тестови) <u>на крај на работниот ден:</u> <ul style="list-style-type: none">- преглед на наодите од апаратот, издавање на наод (околу 20-30% од примероците)
III ден	наутро: второ читање на подлогите → финален одговор

Работен процес во бактериолошка лабораторија

(со MALDI-TOF апарат)

- I ден примарна обработка- инокулација на хранителни подлоги
- II ден наутро:
- прво читање на подлогите
 - инокулација на плочката за идентификација
 - тестови за осетливост
- за 10 минути:
- идентифициран микроорганизмот (над 10 000 видови)
 - издавање → **одговор: идентифициран микроорганизам**
- III ден наутро:
- читање на осетливоста → **одговор за осетливост**

Real-time PCR систем - Резултати за 4 до 6 часа



Уринарни инфекции – проблеми и дилеми

Основни факти за уринарните инфекции

- Бактериски >90%, вирусни, габички
- Патогенеза на инфекциите – **асцендентни (>90%), по колонизација**
 - Community acquired (CA) – **моно-бактериска, ендогени бактерии**
 - Жени во репродуктивен период – неkomplицирана, „секоја жена барем еднаш во животото има ИУТ“ (Asher, 1956)
 - Мажи, анатомо-физиолошки абнормалности на УТ - komplицирана
 - Health care associated (HAI)
- Поделба – според
 - Локализација
 - Дистални – цистит, уретрит
 - Проксимални – пиелонефрит

Дијагноза

- Инфламација на уроепител => леукоцитурија
- Симптоми – диференцијално дијагностички
 - постојан нагон за мокрење
 - печење при мокрење
 - мала количина на урина
 - заматена урина
 - крвава, розева или темна урина
 - мирис на урината
 - болка – супрапубичан, пелвична
- Микробиолошка дијагноза => потврден случај
 - Полу-квантитативна култура
 - Историско значење на терминот „сигнификантна бактериурија“

Диференцијална дијагноза на СИПТОМИТЕ (1)

Постојан нагон за мокрење

- Бременост
- Зголемена простата
- Неуролошки проблеми
- Дијабет
- Стрес . . .

Печење при мокрење

- Уретрит
- Дехидрираност
- Нарушувања на вагинална флора (менопауза)
- Лекови
- Физичка иритација – возење точак, јавање коњ . . .

Мала количина на урина

- Иритабилна бешика
- Бременост
- Дијабет
- Зголемена простата
- Употреба на диуретик . . .

Заматена урина

- Дехидрираност
- Бубрежна болест
- Калкулоза
- Вулвовагинит
- Сексуално пренослива болест
- Дијабете
- Диета . . .

Диференцијална дијагноза на СИПТОМИТЕ (2)

Крвава, розева или темна урина

- Калкулоза во УТ
- Бубрежна болест, повреда или карцином
- Зголемена простата
- Лекови
- Хепатална етиологија
- Хематолошка етиологија
- Физичка активност . . .

Мирис на урината

- Храна
- Кафе
- Дехидрираност
- Лекови
- В6 витамин
- Дијабет (ацидоза) . . .

Болка

- Супрапубична - мускулна
- Пелвична – менструални грчеви, овулација, ГИТ, инфекција во репродуктивни органи . . .

Асимптоматска бактериурија

- . . . antimicrobial treatment of ASB has been recognized as an important contributor to inappropriate antimicrobial use, which promotes emergence of antimicrobial resistance. . .
- Чест наод во многу популациони групи
- Упатства на Infectious Diseases Society of America (2005) –
 - треба да се **скринира** и **лекува** само кај **бремени** или пред **инвазивни** уролошки постапки
 - терапија - не се препорачува кај: здрави жени, постари лица, дијабетичари, лица со уринарни катетери, со повреда на рбетен мозок
- Децата, лица со неутропенија, трансплантирани органи, не-уролошки хируршки третмани – **не се опфатени во препораката 2005** = вклучени во новите упатства од 2019

[PubMed](#) - UpToDate

Clinical Practice Guideline for the Management of Asymptomatic Bacteriuria: 2019 Update by the Infectious Diseases Society of America.

Nicolle LE, Gupta K, Bradley SF, Colgan R, DeMuri GP, Drekonja D, Eckert LO, Geerlings SE, Köves B, Hooton TM, Juthani-Mehta M, Knight SL, Saint S, Schaeffer AJ, Trautner B, Wullt B, Siemieniuk R
Clin Infect Dis. 2019;68(10):e83.

Микробиолошка дијагноза

- Примерок

- Среден уринарен млаз–

- неинвазивен начин на собирање
 - било која урина во тек на денот,
 - по тоалета на гениталии (ВИДЕО КЛИПОВИ),
 - транспорт до лабораторија во рок од 2h,
 - подолго чување – во ладилник (+2 до +4⁰C)
 - без антибиотска терапија

- Од катетер – не перманентен

- Супрапубична пункција на v.urinaria

- Микробиологот нема податоци за

ПАЦИЕНТОТ ОСВЕН: дијагноза според МКБ-10, пол, возраст (амбулантски пациенти), здравствена установа што упатува

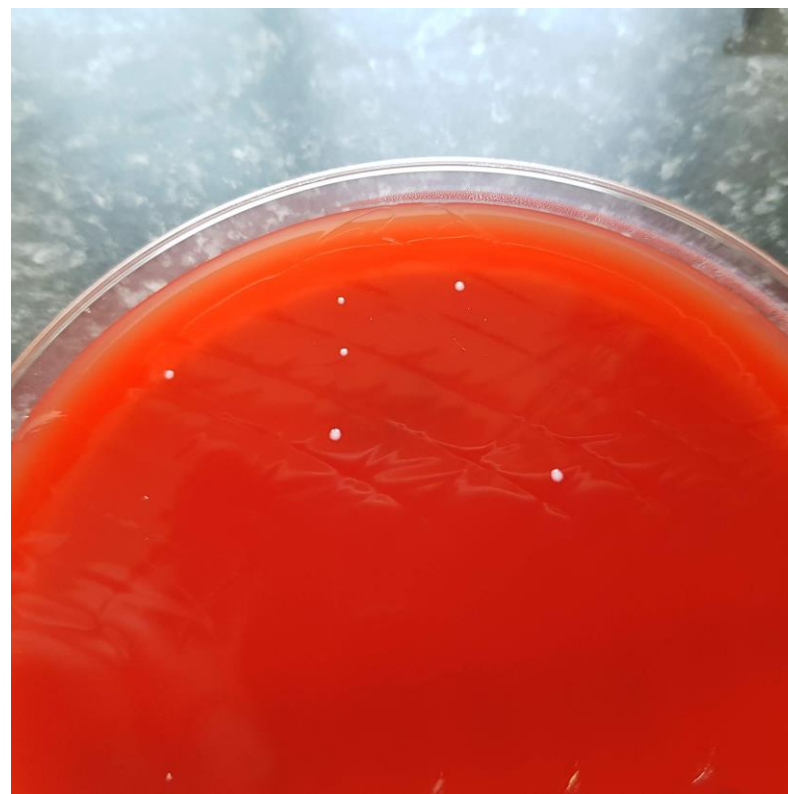
Среден уринарен млаз - било која урина во тек на денот, по тоалета на ГЕНИТАЛИИ

- Се очекува стерилна уринокултура
- Монобактериски инфекции најчесто предизвикани од
 - *Escherichia coli*
 - *Enterococcus*
 - *Klebsiella spp.*
 - *Proteus mirabilis*
 - *Staphylococcus saprophyticus*
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - Други бактерии / квасници
- Урината најчесто е контаминирана
 - Периуретрална нормална микрофлора
 - *Streptococcus spp.*, дифтероиди, *Staphylococcus spp.*, ентеробактерии . . .
 - Со вагинален секрет
 - Лактобациди ентеробактерии *Streptococcus agalactiae*

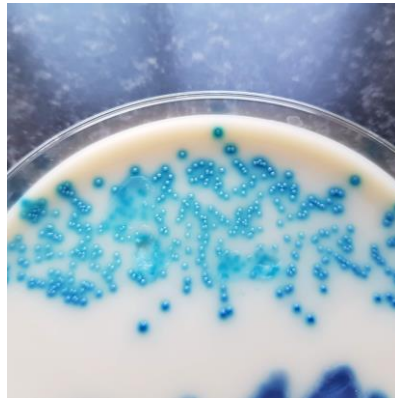
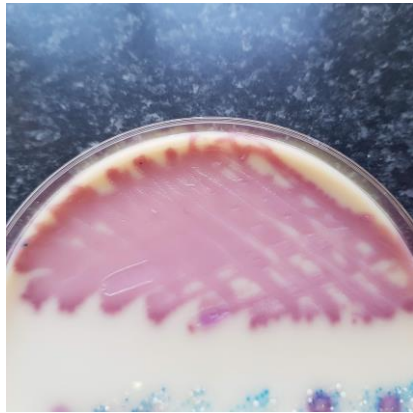
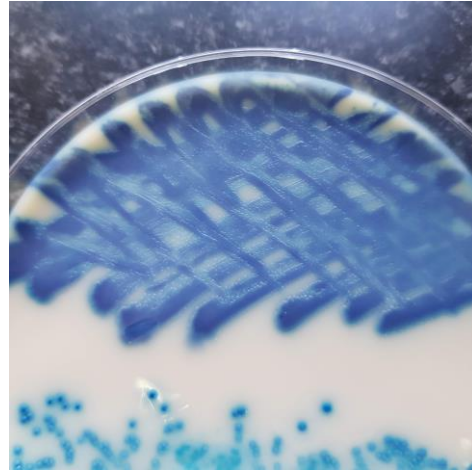
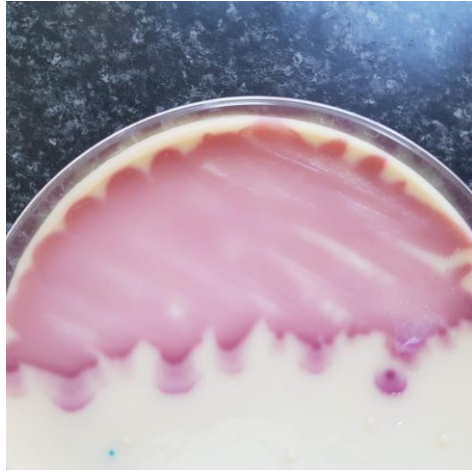
Примарни посевки

- Бистри урини
 - Крвна плоча
- Заматени урини
- У. од хоспитализирани пациенти
 - Хромогена подлога за уринарни патогени
- Скрининг за антибиотик во урината
- Со читање на антибиограмот - повторна проверка на примарната посевка (реинкубирана)

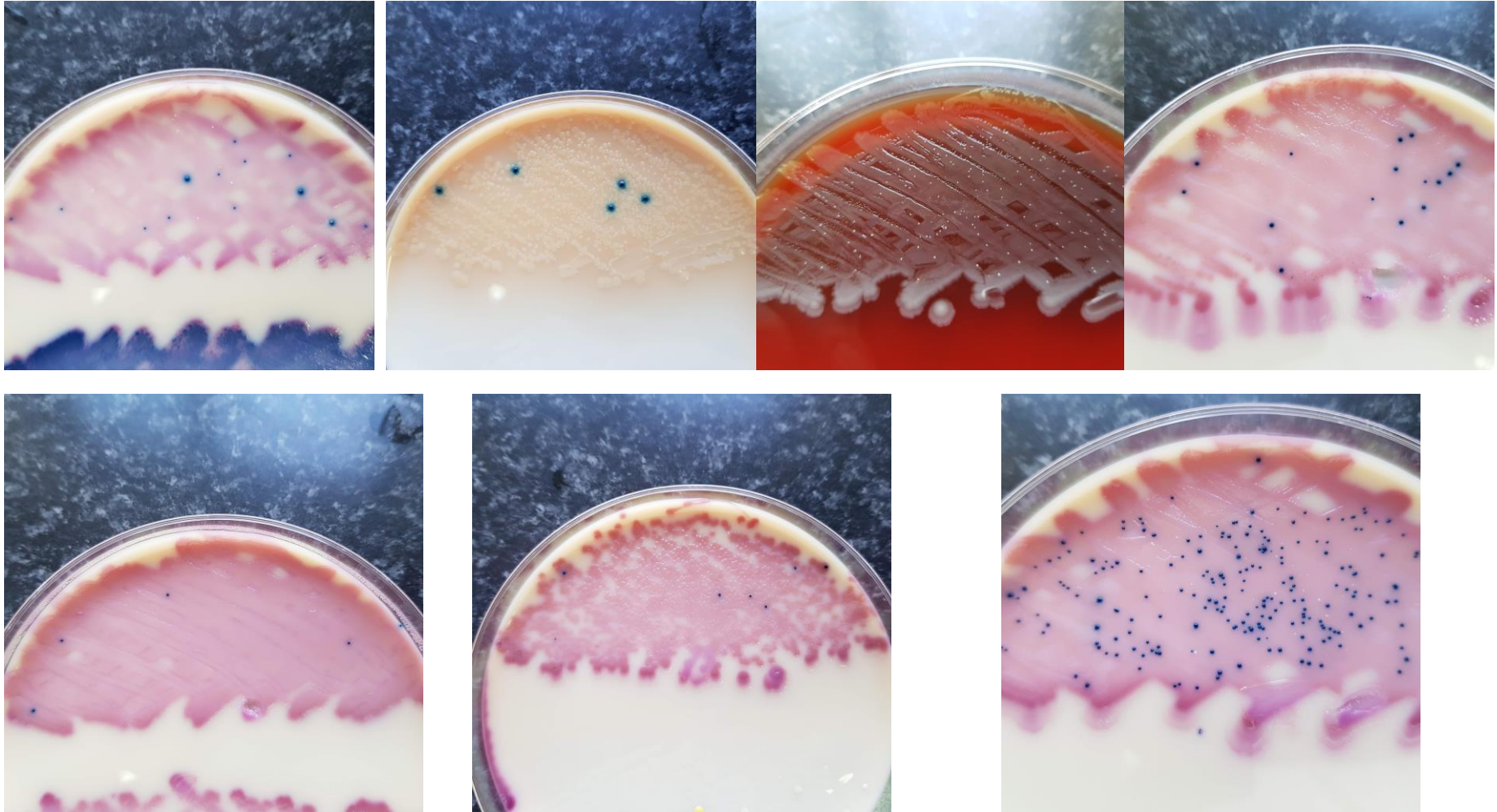
Стерилна уринокултура



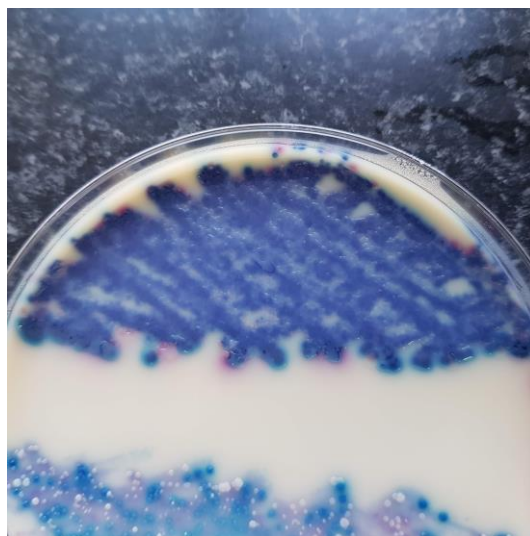
Монобактериска чиста култура – различен CFU/mL



Мешана култура од две бактерии со доминација на една

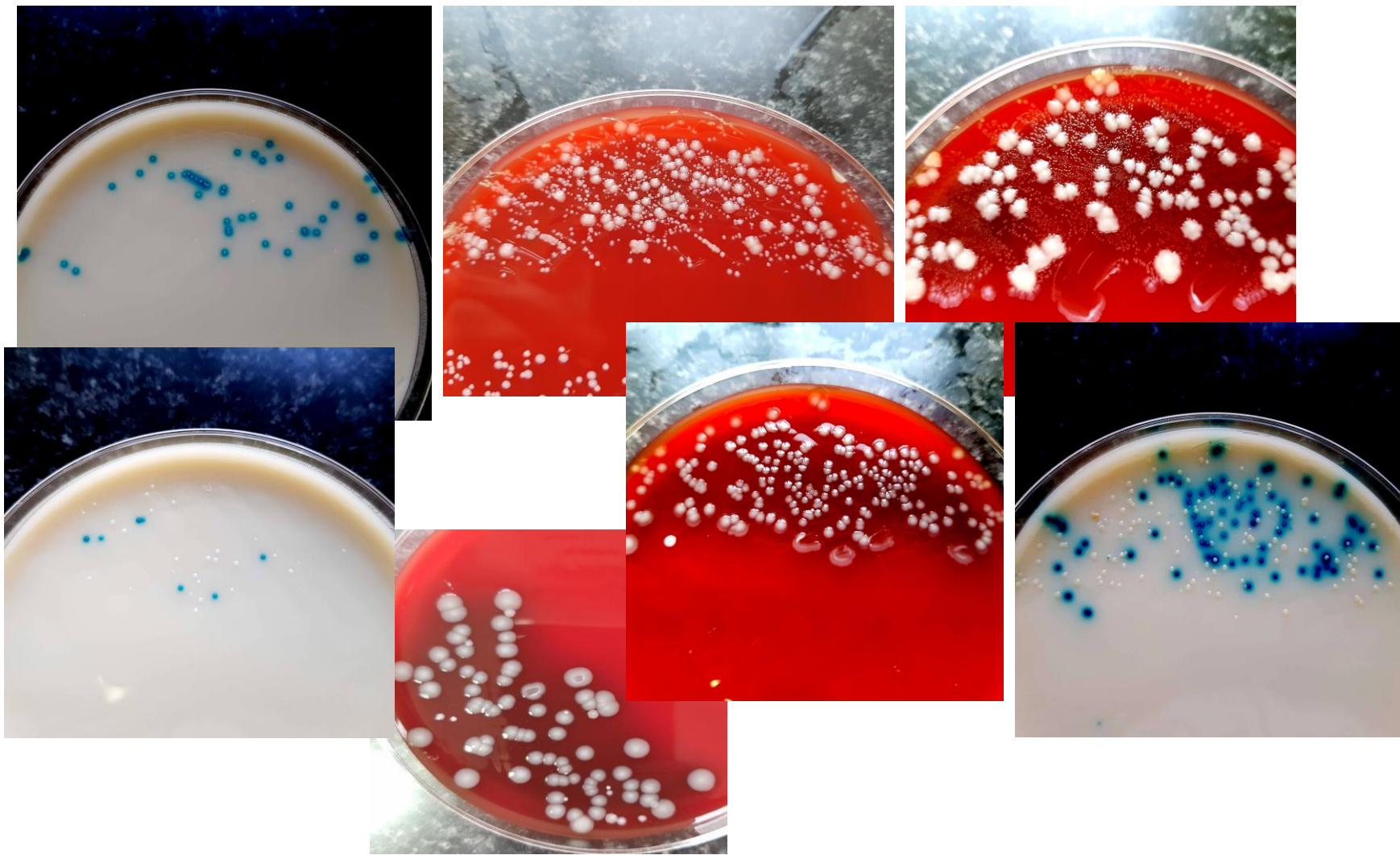


Мешана култура од три бактерии со доминација на една

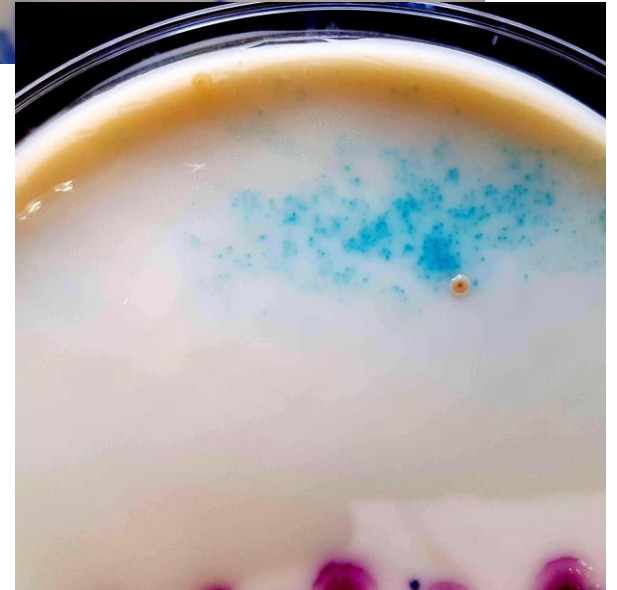
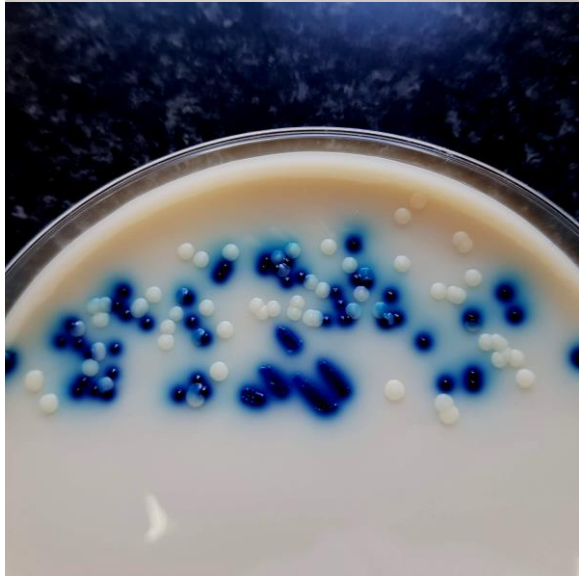
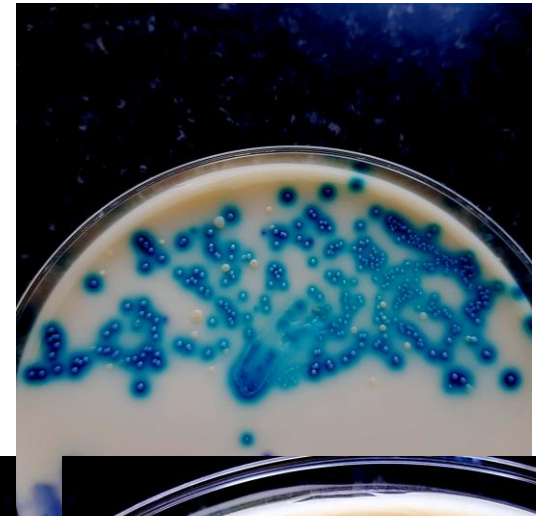
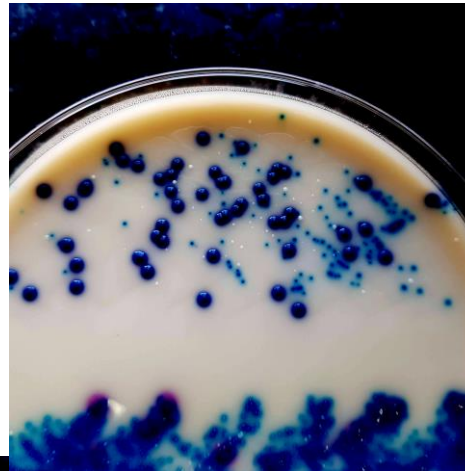


- Историја на пациент во лабораториската база на податоци
 - возраст, пол, оддел на хоспитализација – здравствена организација . . .

Мешана култура од две бактерии – контаминирана урина



Мешана култура од три бактерии- контаминирана урина



Случаи за индивидуална одлука (пример)

- Симптоми за уринарна инфекција
- Знаци за инфламација на уроепител
- Стерилни -
Контаминирани
уринокултури со
лактобацили – повеќе
пати
 - Обработка на
лактобацилите со
антибиограм
- Неколку случаи!

Значење на лактобацилите
како предизвикувачи на
уринарни инфекции

J Clin Microbiol. 2009 Jan; 47(1): 275–277.

PMCID: PMC2620876

Published online 2008 Nov 5. doi: [10.1128/JCM.01630-08](https://doi.org/10.1128/JCM.01630-08)

PMID: [18987176](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18987176/)

Lactobacillus delbrueckii as the Cause of Urinary Tract Infection[▼]

[Benjamin W. Darbro](#), [Brian K. Petroelje](#), and [Gary V. Doern](#)^{*}

▸ [Author information](#) ▸ [Article notes](#) ▸ [Copyright and License information](#) [Disclaimer](#)

This article has been [cited by](#) other articles in PMC.

ABSTRACT

Go to:

Lactobacilli are part of the normal bacterial flora of the vagina and are typically considered contaminants when cultured from urine specimens of female patients. Here we describe the case of a female patient with chronic pyuria and urinary tract symptoms in which *Lactobacillus delbrueckii* was determined to be the causative microorganism.

[Med Mal Infect.](#) 2019 May;49(3):226-228. doi: [10.1016/j.medmal.2018.11.006](https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.11.006). Epub 2018 Dec 13.

Lactobacillus delbrueckii urinary tract infection in a male patient.

[Maillet F](#)¹, [Passeron A](#)², [Podglajen I](#)³, [Ranque B](#)⁴, [Pouchot J](#)⁴.

[Rev Esp Quimioter.](#) 2017 Jun;30(3):229-230. Epub 2017 Apr 24.

[Urinary tract infection by *Lactobacillus delbrueckii*, microorganism used as probiotic].

[Article in Spanish]

[Jiménez-Guerra G](#), [Pérez-Ramírez MD](#), [Navarro-Marí JM](#), [Gutiérrez-Fernández J](#)¹.

Relationship between alterations of urinary microbiota and cultured negative lower urinary tract symptoms in female type 2 diabetes patients

[Jiawei Chen](#),^{#1} [Jie Zhao](#),^{#2} [Ying Cao](#),³ [Guihao Zhang](#),¹ [Yang Chen](#),¹ [Jialei Zhong](#),¹ [Weina Huang](#),¹ [Jiarong Zeng](#),¹ and [Peng Wu](#)^{✉1}

[Rev Esp Quimioter.](#) 2017 Jun;30(3):229-230. Epub 2017 Apr 24.

[Urinary tract infection by *Lactobacillus delbrueckii*, microorganism used as probiotic].

[Article in Spanish]

[Jiménez-Guerra G](#), [Pérez-Ramírez MD](#), [Navarro-Marí JM](#), [Gutiérrez-Fernández J](#)¹.

[Pathol Biol \(Paris\).](#) 2012 Apr;60(2):140-2. doi: [10.1016/j.patbio.2010.04.003](https://doi.org/10.1016/j.patbio.2010.04.003). Epub 2010 Jun 3.

[*Lactobacillus delbrueckii*: probable agent of urinary tract infections in very old women].

[Article in French]

[Bernier M](#)¹, [Njomnang Soh P](#), [Lochet A](#), [Prots L](#), [Félice R](#), [Senescau A](#), [Fabre R](#), [Philippon A](#).

Journal of Medical Cases, ISSN 1923-4155 print, 1923-4163 online, Open Access

Article copyright, the authors; Journal compilation copyright, J Med Cases and Elmer Press Inc

Journal website <http://www.journalmc.org>

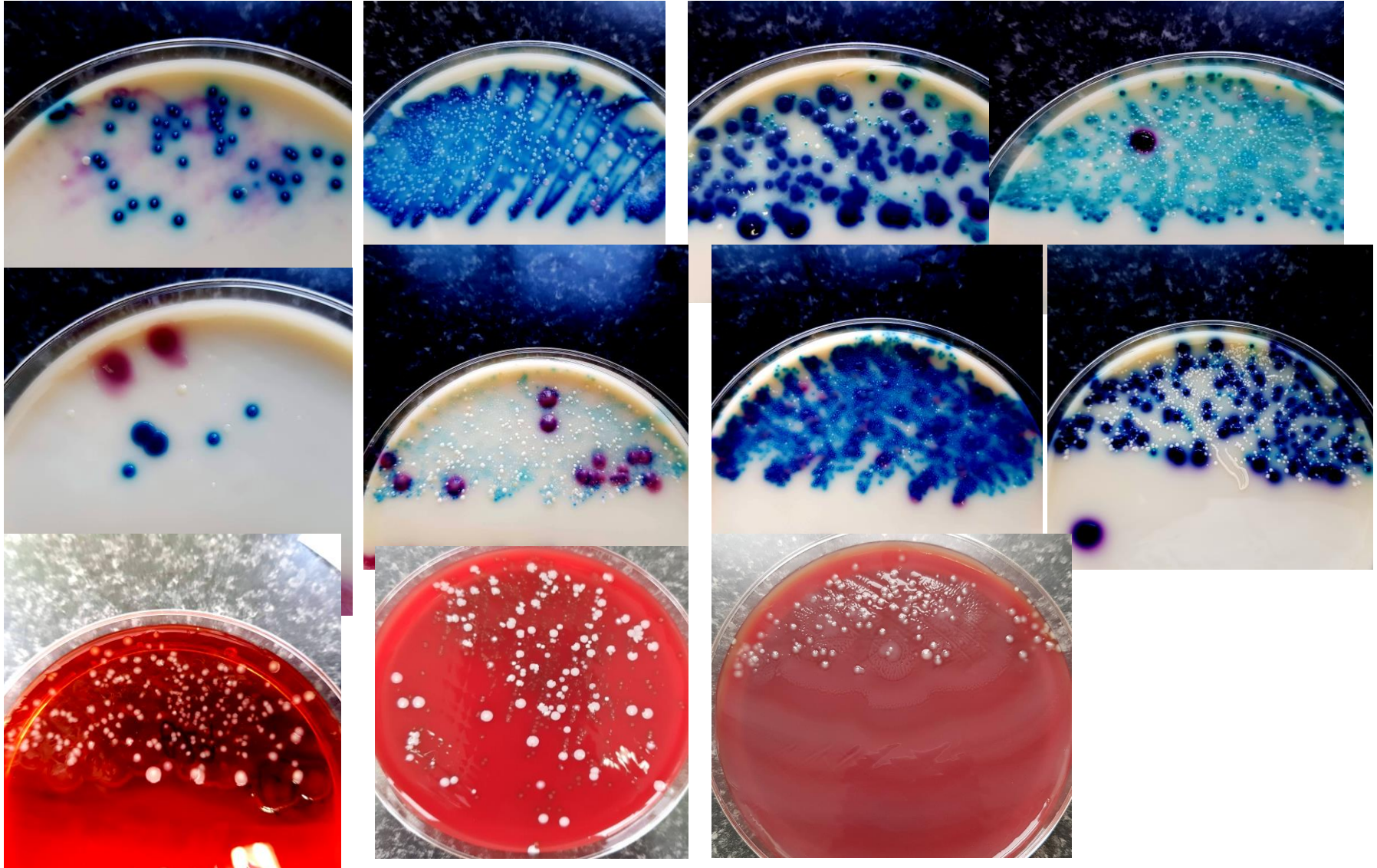
Case Report

Volume 3, Number 4, August 2012, pages 223-225

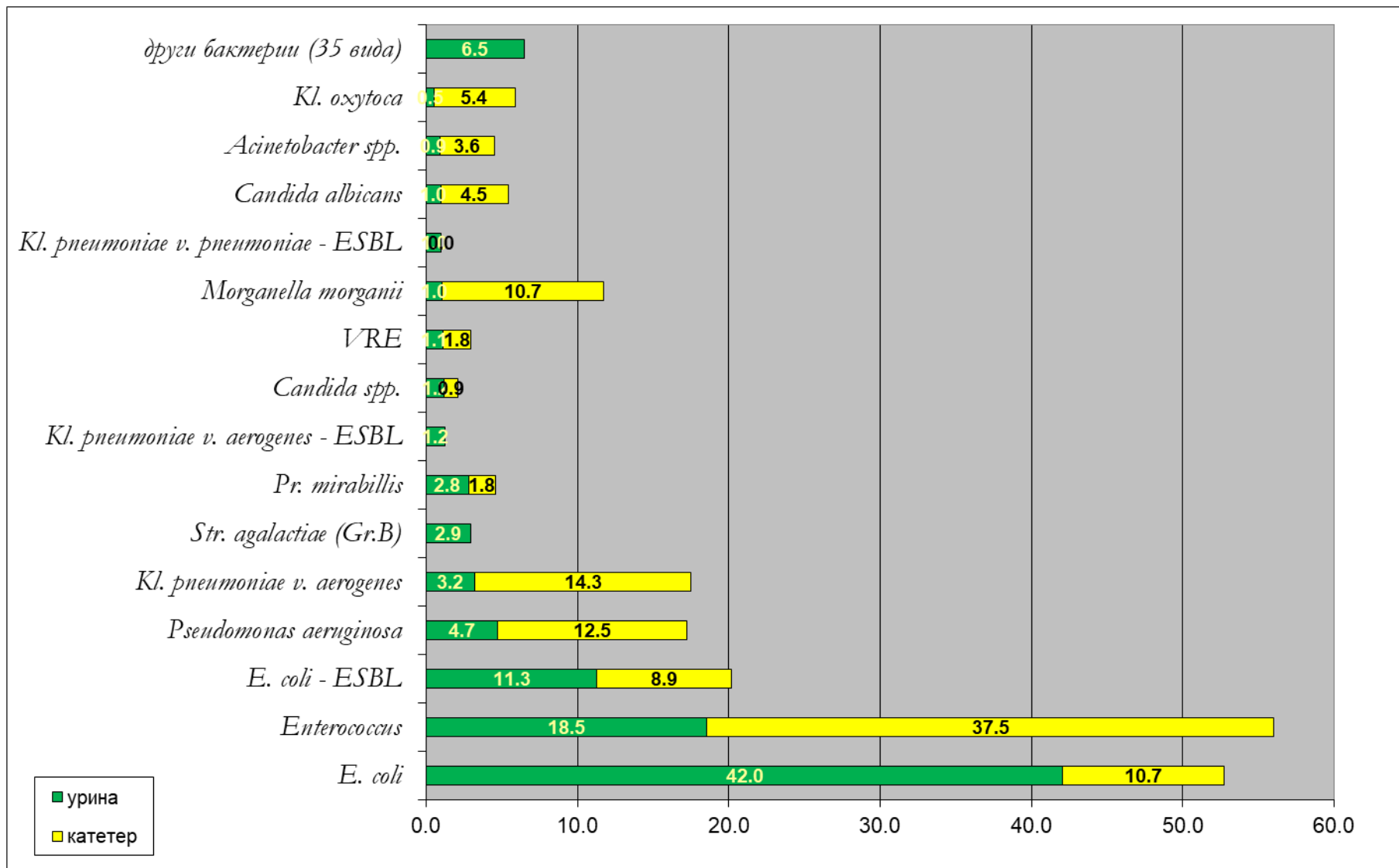
Pyelonephritis and Bacteremia From *Lactobacillus acidophilus*

[Samad Rasul](#)^{a, d}, [Faria Farhat](#)^a, [Shweta Ramsahaib, \[Robert Delapenha\]\(#\)^a, \[Namrata Shah^c\]\(#\)](#)

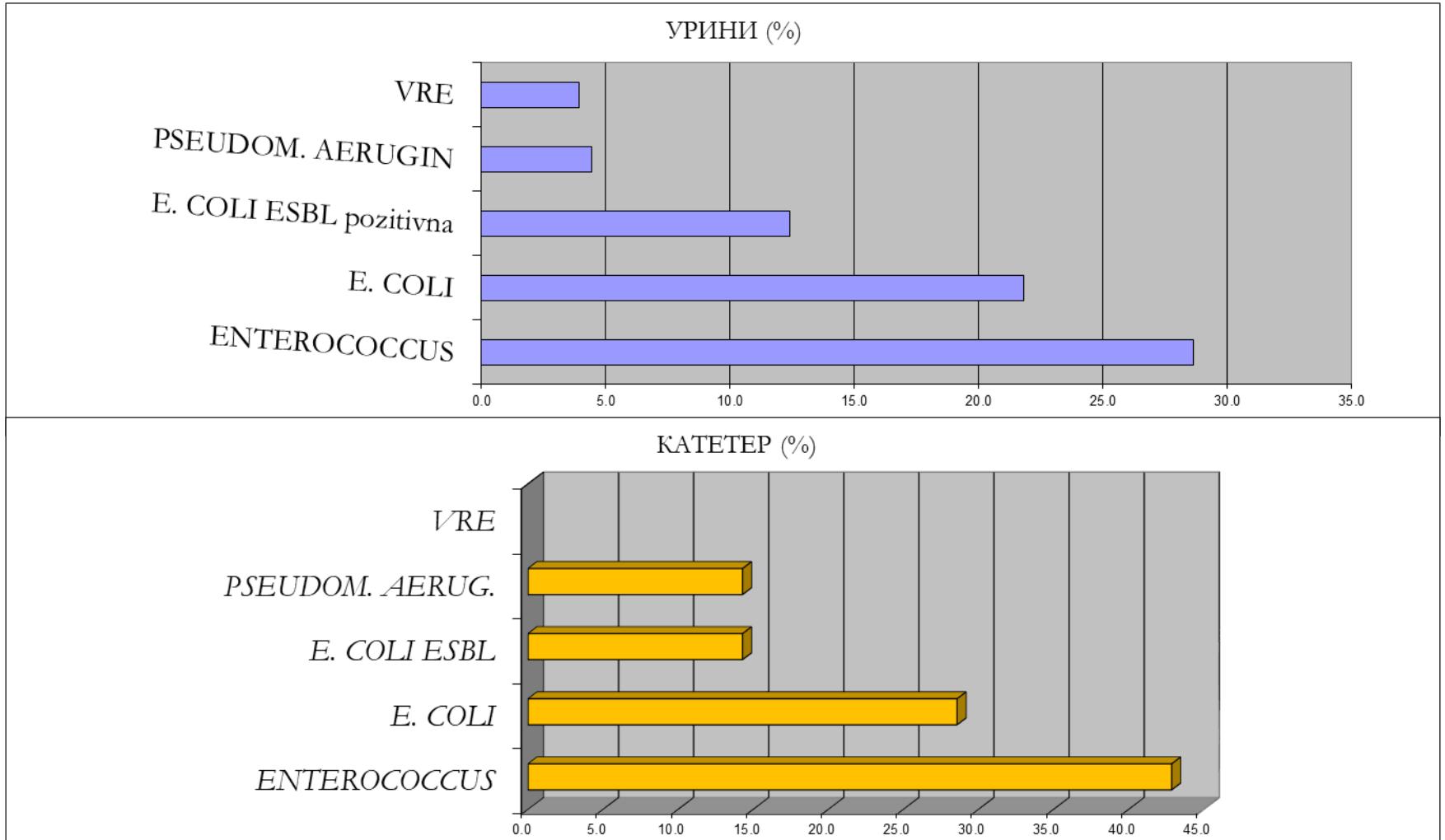
Мешана култура од повеќе од три бактерии- контаминирана урина



Најчесто изолирани бактерии (%)

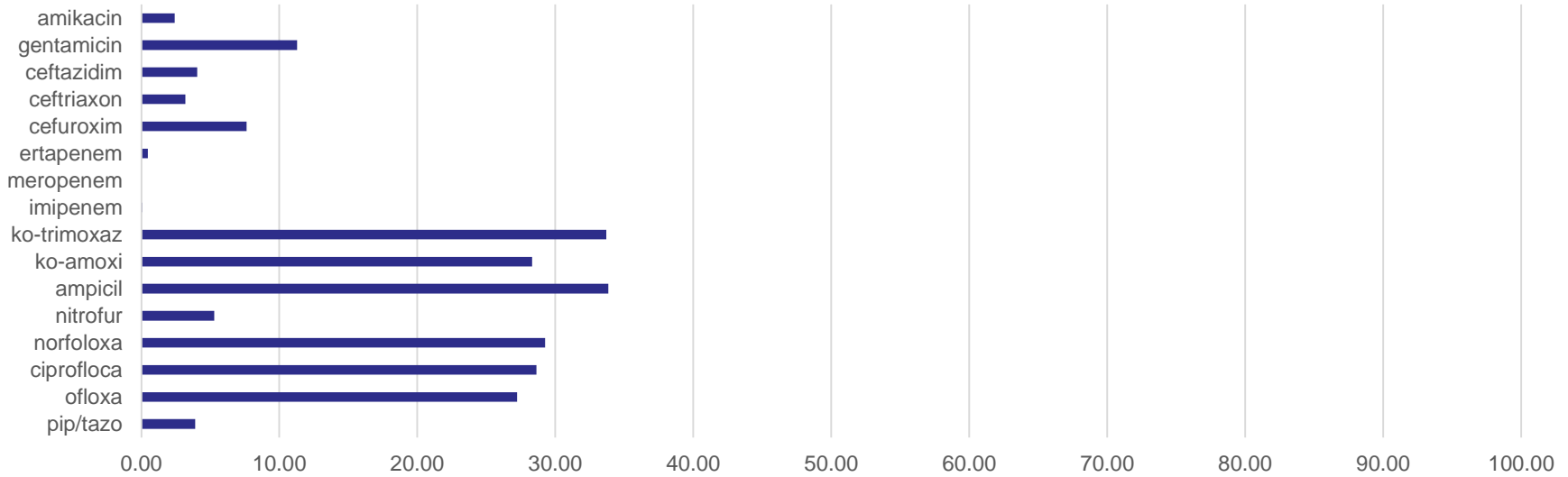


Најчесто изолирани бактерии од хоспитализирани пациенти

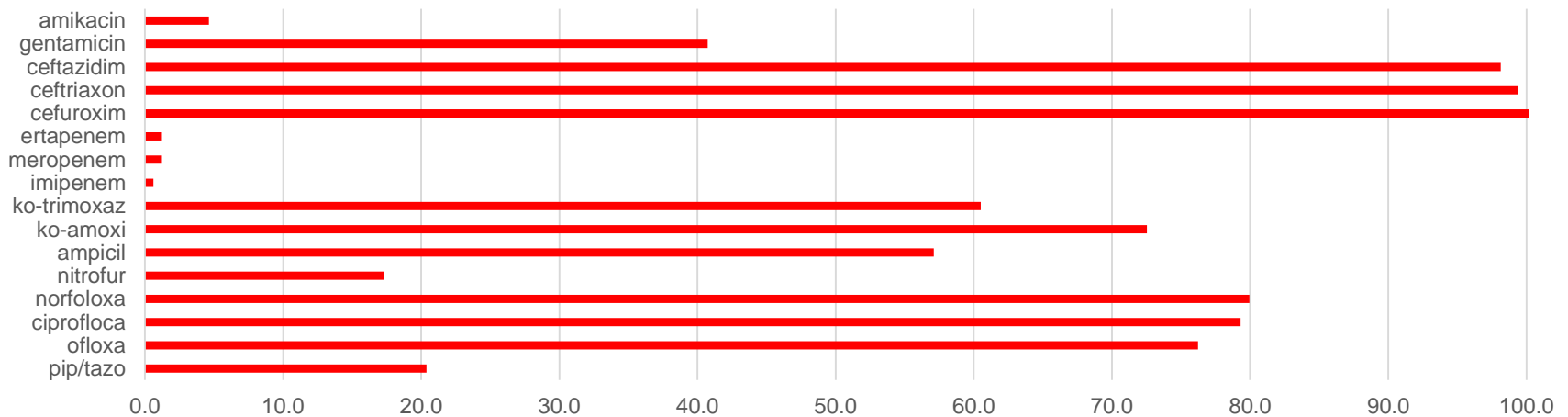


Резистенција на уринарни изолати (%)

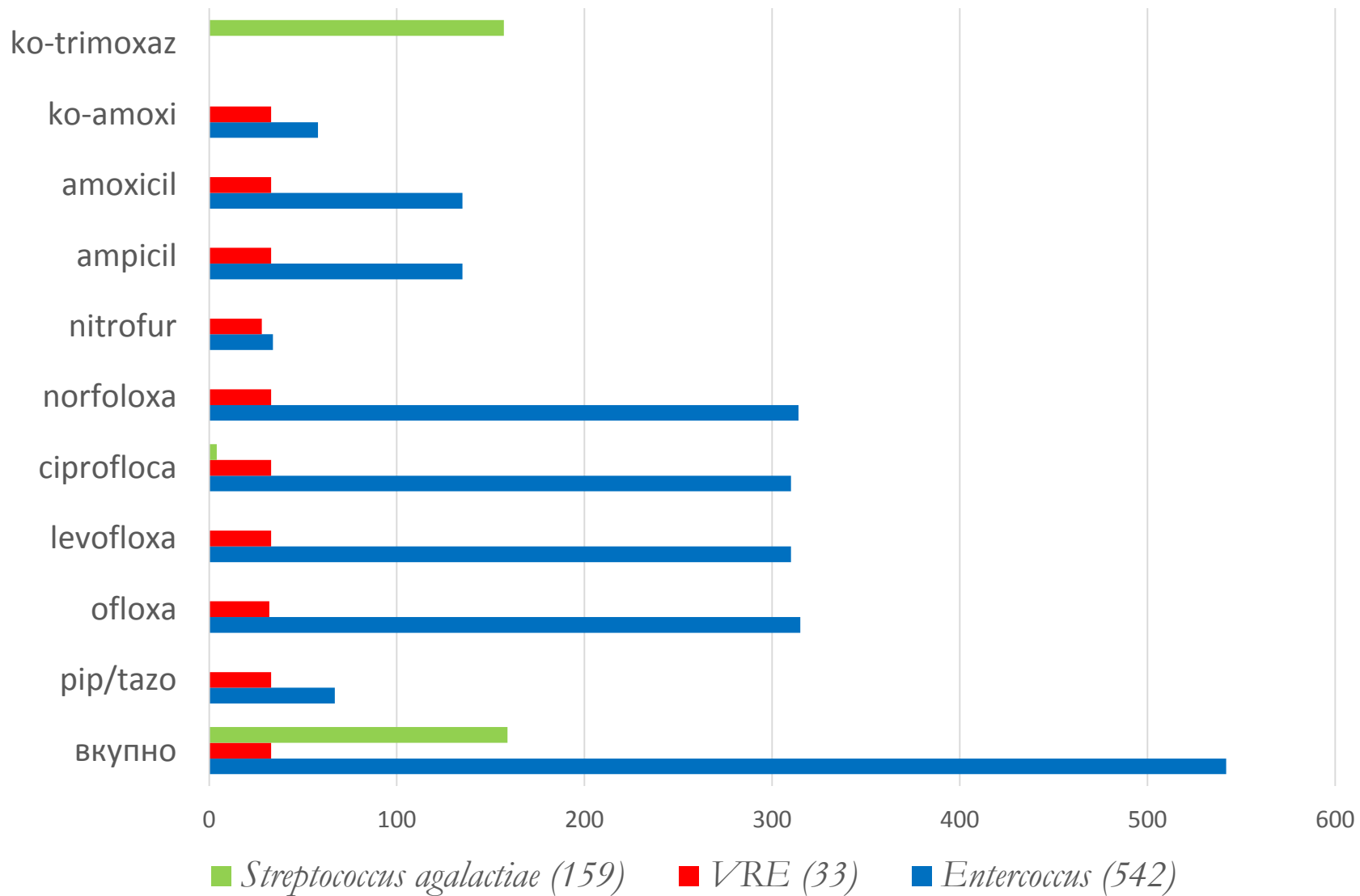
E.coli (1285)



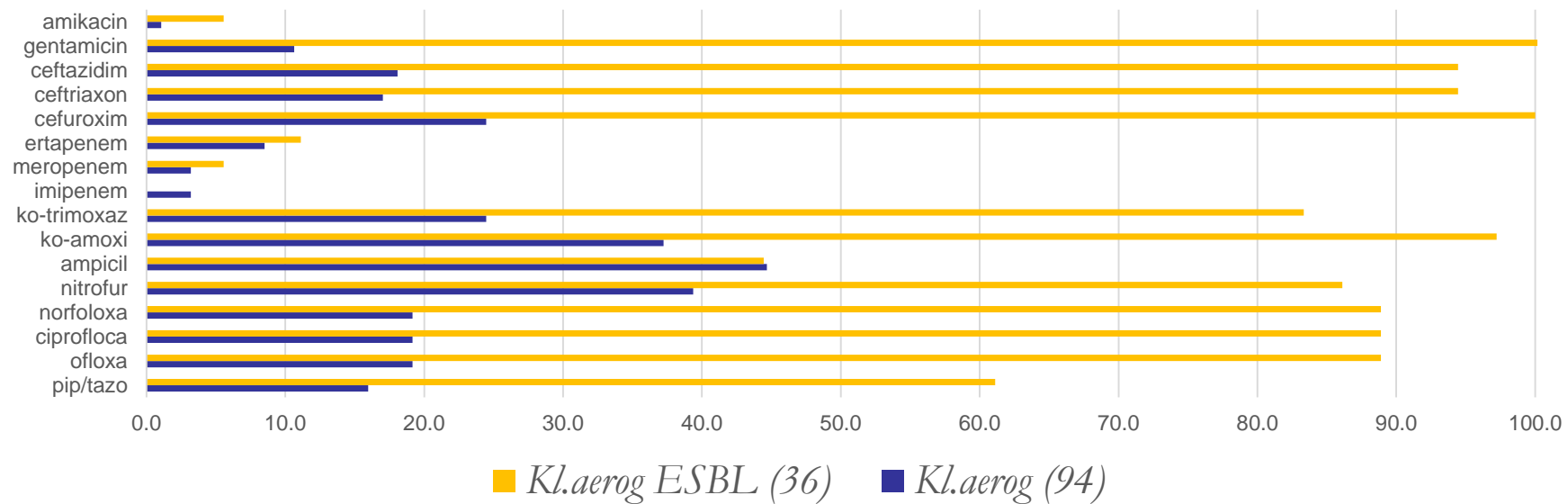
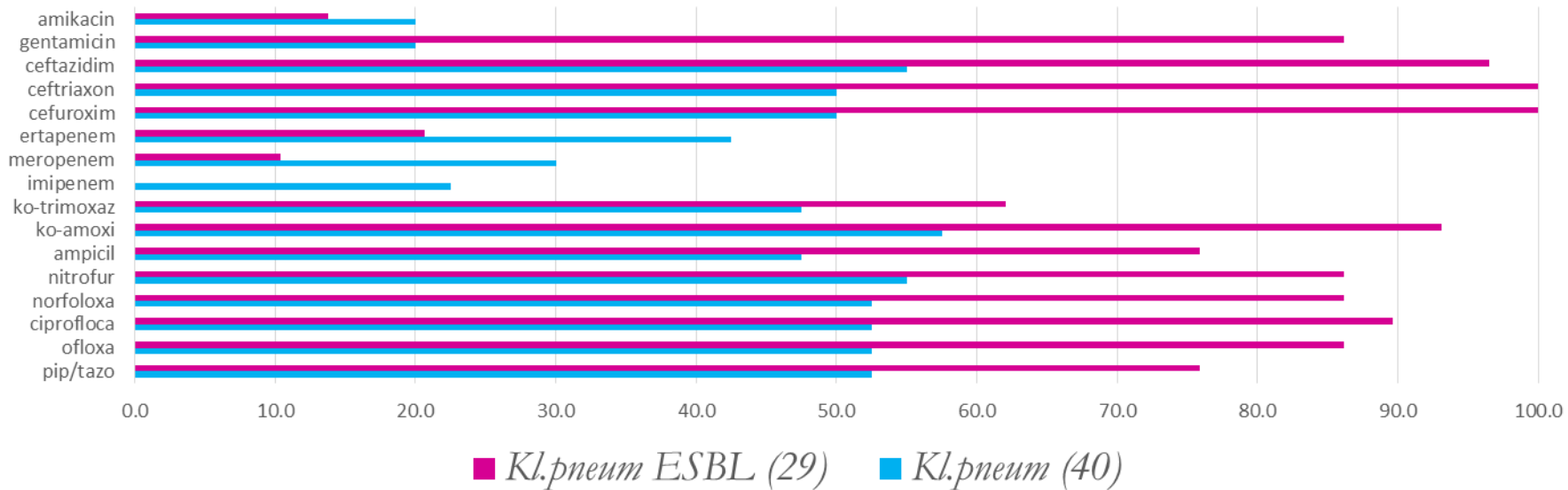
E.coli ESBL (324)



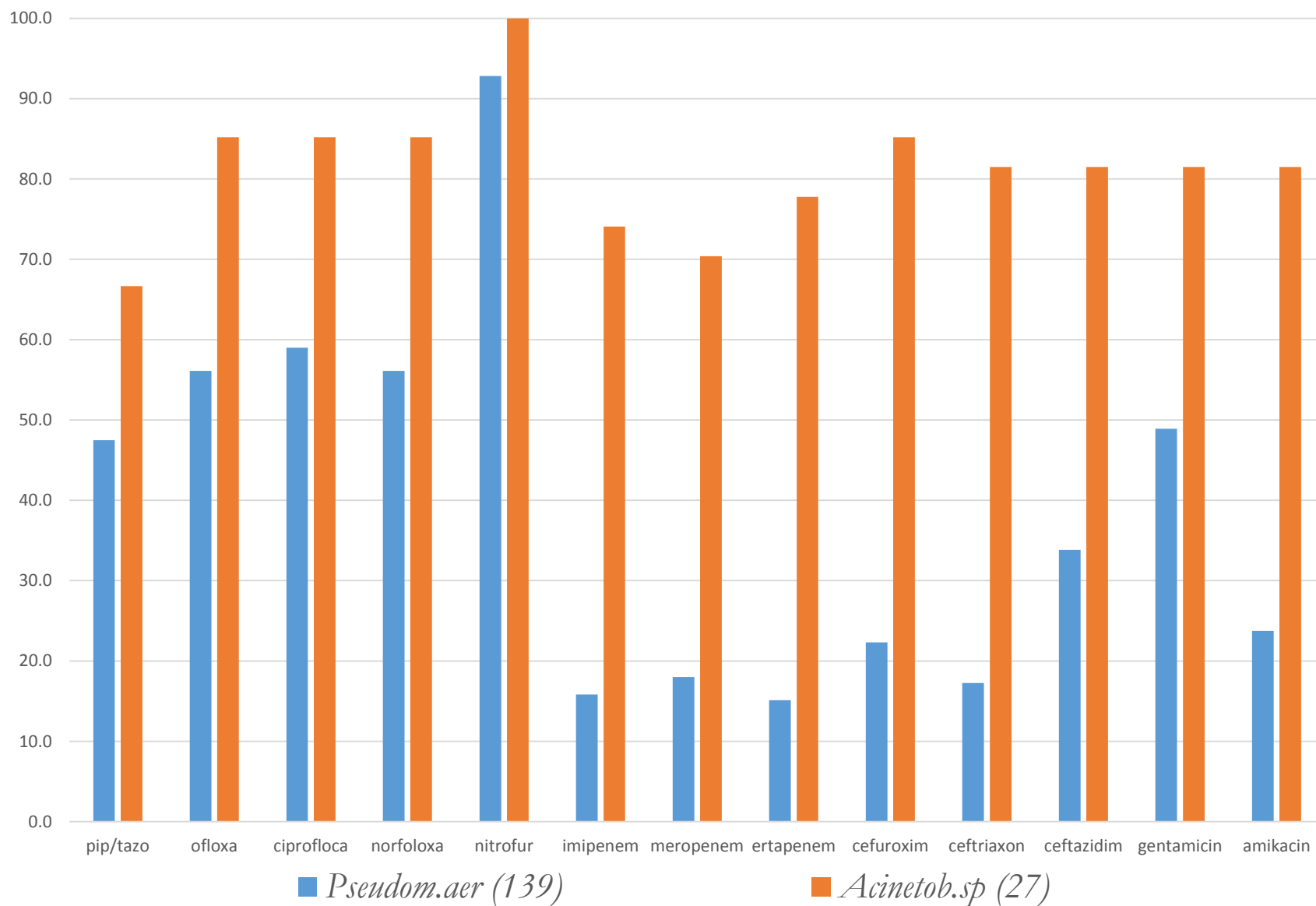
Резистенција на уринарни изолати



Резистентни уринарни изолати (%)



Резистенција на уринарни изолати (%)



Заклучоци

- УИ се едни од најчестите инфекции
 - CA-UTI - монобактериски, ендогени
 - Најчести предизвикувачи – релативно осетливи на антибиотици
- Проблем: соодветна дијагноза
 - Правилно собирање на примерок
 - објаснува докторот, со издавање на упатот
 - Терапија = само за сигурна инфекција (симптоми + инфламација + докажана бактерија)
 - Асимптоматска бактериурија