

KLINIČKI ZNAČAJ MIKROBIOLOŠKE DIJAGNOSTIKE IUT

Veljko Mirović

Izvori

- European Urinalysis Guidelines, European Confederation of Laboratory medicine (ECLM), Scand J Clin Lab Invest 2000.
- Isenberg
- Mandel
- BSOP

Uzorci s obzirom na vreme uzimanja

- **“Random”** uzorci-akutna stanja;
- **Prvi jutarnji, standardni** uzorak: urin ne sme da stoji manje od 4 h u bešici;
- **Drugi jutarnji:** uzet 2-3 h posle jutarnjeg mikrenja, uslov -posle 22 h pacijent može popiti samo 200 mL tečnosti.

Faktori koji utiču na kvalitet uzorka

- Vreme inkubacije u bešici: češće mokrenje, kraća inkubacija;
- Kontaminacija komenzalnim bakterijama;
- Porast bakterija posle uzimanja uzorka;
- Uginuće bakterija u urinu (antibiotici);
- Dezintegracija dijagnostički važnih elemenata (leukociti).

Vrste uzoraka s obzirom na način uzimanja

- Srednji mlaz,
- Urin uzet pojedinačnom kateterizacijom,
- Urin iz trajnog katetera(port za uzimanje uzorka ili..),
- Suprapubični aspirat,
- Urin uzet iz kese kod novorođenčadi,
- Urin iz urostome, cistostome, nefrostome (aseptično se uvodi sterilan kateter?),
- Urin iz levog, desnog bubrega,
- Uzorci za dg hroničnog bakterijskog prostatitisa: 1) prvi mlaz, 2) srednji mlaz, 3) iscedak iz uretre posle masaže prostate i 4) urin posle masaže prostate.

Mycobacterium tbc

- Celokupni prvi jutarnji urin ili
- Srednji mlaz oko 40 mL
- Tri uzastopna jutra

Čuvanje i transport uzoraka

- Na sobnoj temperaturi do 2 h,
- Na 4 stepena C do 24 h,
- Ako nema frižidera prezervativ borna kiselina do 24 h,
- Posude sa širokim otvorom zapremine 50-100 mL
- Količina oko 10 mL, ako se uzima sa bornom kiselinom onda se uzima do oznake,
- Za urinokulturu **minimum 1 mL**

Nekulturelne skrining metode

- Hemijske
- Automatske

Korisne ali...

- Nisu dovoljno osetljive da otkriju mali broj bakterija koji može biti klinički značajan
- Urinokulture se preporučuju za sve uzorke od dece, trudnica, imunokompromitovanih i kod ponovljenih zahteva za pregledom

Ostali skrining testovi

- *Salmonella typhi* i *S. paratyphi* u ranim stadijumima tifusa i paratifusa
- *Schistosoma haematobium*, zadnja porcija urina ili celokupan urin u toku 24h bez prezervativa
- *Chlamydia trachomatis* (sterilna piurija)

Skrining, brzi testovi

- Multipli testovi na trakama: leukociti, bakterije, eritrociti, proteini (albumini), glukoza, ketoni, pH, relativna gustina, bilirubin, urobilinogen, askorbinska kiselina;
- **Leukocitna esteraza**: specifičnost 80-90%, osetljivost 95%;
- **Redukcija nitrata**: ne otkriva *Staph. spp.*, enterokoke, nitrati u ishrani, potrebna dovoljna inkubacija, osetljivost 20-80%, specifičnost više od 90%

Mikroskopski pregled necentrifugiranog urina

- Skrining u pogledu bakteriurije: broj bakterija, morfotip, antibiogram
- leukociti

Ograničenja test traka

- **Za leukocite-** lažno negativno: uzimanje C vitamina, proteini >5g/L, glukoza>20 g/L, cefalosporini, nitrofurantoin, 1% borna kiselina; lažno pozitivno: formaldehid, Na azid, bilirubinemija
- **Za bakterije** -lažno negativno: nedostatak povrća u ishrani, kratko vreme inkubacije u bešici, vit C, Gram-pozitivne bakt; lažno pozitivno: obojen urin, porast in vitro.

Indikacije za UK sa identifikacijom i Ab

- Sumnja na akutni pijelonefritis i febrilna IUT;
- Sumnja na intrahospitalnu IUT (rezistencija!);
- Sumnja na IUT kod “osetljivih” bolenika: anomalije, kamenci, dijabetes, imunokompromitovani;
- Kod neuspeha antibiotske th;
- Febrilni bolesnici sa trajnim kateterom;
- Simptomatske IUT kod muškaraca, trudnica, dece i adolescenata;
- (Posle završene Ab th ne raditi UK kod žena generativne dobi sa nekomplikovanim IUT)

Uzročnici IUT

- **Primarni patogeni** uzrokuju IUT u osoba sa normalnim urotaktom: *E. coli* i *Staph. saprophyticus*, primarni patogeni kao salmonelle;
- **Sekundarni patogeni** retko uzrokuju infekcije u osoba sa normalnim urotaktom, često bolničke IUT: enterobakterije (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Morganella*), *S. aureus*, *Enterococcus* spp; *Pseudomonas aeruginosa*
- **Vrste od nejasnog značaja**, ponekad kolonizuju IUT: KNS, Str. grupe B, gljive, *Acinetobacter* spp, *Pseudomonas* spp, *S. maltophilia*
- **Uretralna i genitalna** flora, česti kontaminanti: alfa-hem. streptokoki, *Gardnerella*, Difteroidi, *Bifidobacterium*.

Mešane kulture, procena na osnovu:

- Postoji li dominantan uzročnik?
- Kako je uzet uzorak?
- Postoji li piurija?
- Postoje li klinički znakovi infekcije?
- Postoje li drugi pokazatelji u istoriji bolesti?
(kamenci, trajni kateter)

Laboratorijski kriterijumi za utvrđivanje signifikantne bakteriurije

- Prisustvo simptoma IUT,
- Kategorija izolovane bakterije,
- Broj izolovanih vrsta,
- Metoda uzimanja uzorka,
- Pol

Simptomi

- Popunjavanje uputnice: simptomi i klinički status pacijenta

Kategorija izolovane bakterije i značajan broj, srednji mlaz, **prisutni simptomi (1μL)**

- I Za **primarne patogene** ≥ 1000 CFU/mL iz urina uzetog kao srednji mlaz;
- II Za **sekundarne patogene** za žene ≥ 10000 CFU/mL i za muškarce ≥ 1000 CFU/mL
- III Za **patogene od sumnjivog značaja**: čista kultura u broju od ≥ 100000 CFU/mL.
- IV **Nalaz normalne flore** urogenitalnog trakta izveštava se kao kontaminacija a uzima u obzir samo u specijalnim okolnostima.

U odsustvu simptoma, srednji mlaz (1 μ L):

- Primjenjuje se kriterijum za asimptomatsku bakteriuriju: ≥ 100000 CFU/mL ista bakterijska vrsta u dva uzastopna uzorka iz srednjeg mlaza urina.
- 25% žena >65 godina
- 10% muškaraca >65 godina

Prisutne 2 ili 3 vrste bakterija, srednji mlaz (1 μ L)

- 2 vrste iz srednjeg mlaza urina se razmatraju samo kod pacijenata sa simptomima i to ako je: ≥ 1000 CFU/mL za primarne patogene i ≥ 100000 CFU/mL za sekundarne patogene;
- 3 i više vrsta iz srednjeg mlaza razmatraju se samo primarni patogeni, ako nema primarnog patogena izveštava se samo "Mešana kultura".

Pacijenti sa simptomima; Kriterijumi za identifikaciju i antibiogram,

srednji mlaz, 1 μ L

- Vrsta uzročnika I, broj izol. vrsta 1-2, značajan broj 1000 CFU/mL;
- Vrsta uzročnika II, broj izol. vrsta 1, značajan broj za žene 10000 CFU/mL, za muškarce 1000 CFU/mL;
- Vrsta uzročnika II, broj izolov. vrsta 2, značajan broj 100000 CFU/mL;
- Vrsta uzročnika III, broj izol. vrsta 1, značajan broj 100000 CFU/mL

Pacijenti bez simptoma, srednji mlaz, 1 μ L

- Vrsta uzročnika I-III, broj izolovanih vrsta 1, značajan broj 100000 CFU/mL

Tumačenje broja za druge uzorke osim srednjeg mlaza

- Urin kao suprapubični aspirat, dobijen pojedinačnom kateterizacijom, cistoskopijom kao značajan uzima se manji broj.

Pacijenti sa trajnim kateterom (1 μ L)

- **U prisustvu temperature** u obzir se uzimaju svi izolati (od I do III) u broju od ≥ 10000 CFU/mL za antibiogram i identifikaciju.
- **Bez temperature:** u obzir se uzima samo izolacije jedne vrste (čista kultura) u broju od ≥ 100000 CFU/mL.
- 30 dana kateter-100% bakteriurija

Kriterijumi za identifikaciju i antibiogram

- **Specijalni zahtevi:** zasejana količina 10 μL , vrste uzročnika od I do III, broj izolovanih vrsta 1-2, značajan broj >100 CFU/mL;
- **Pojedinačna kateterizacija:** zasejana količina 10 μL , vrsta uzročnika I-III, broj vrsta 1-2, značajan broj ≥ 100 CFU/mL;
- **Suprapubični aspirat:** zasejana količina 100 μL , vrsta uzročnika I-IV, broj vrsta 1-2, značajan broj 10 CFU/mL.

Urikult

- Za odvajanje sterilnih uzoraka i onih sa signifikantnim porastom *E. coli*,
- Moraju da čitaju profesionalci i obučeno osoblje,
- Broj nije reproducibilan,
- Može da se ne otkrije mešana flora,
- Često potrebna subkultura

Empirijska th IUT

- U populaciji žena sa niskim rizikom i infekcijama donjeg urotrakta
- U obzir uzeti lokalnu epidemiologiju

Antibiogram

- Standardni disk-difuzioni metod
- Direktni antibiogram: slaže se u 96%, ne radi se kod mešanih kultura i kada je broj $<100000/\text{mL}$
- Izabrati antibiotike na osnovu kliničkih studija, jevtine i sa najmanjom verovatnoćom za razvoj rezistencije

Detekcija antibiotika u urinu

- Najjednostavnije i najekonomičnije da se to napiše na uputnici,
- Surogat metod: kap urina se stavi na ploču zasejanu sa *E. coli*.

Strategija pregleda urina

- Skrining na IUT u opštoj populaciji se ne preporučuje;
- Skrining u odabranoj populaciji kao što su trudnice, predškolska deca;
- Za strategiju dijagnostike jasno razlikovati osobe u “niskom riziku” od osoba u visokom riziku;
- Pomoću brzih testova moguće sa sigurnošću od 90% isključiti IUT pri graničnoj vrednosti od 100000 CFU/mL iz standardnog prvog jutarnjeg urina;
- “Sterilna piurija”- tražiti mikroorganizme sa specijalnim zahtevima: *Chlamydia trachomatis*, gonokoki, *Mycobacterium tbc*, gljive.

Signifikantna bakteriurija-generalno za nekateterizirane

- ≥ 100000 CFU/mL
- ≥ 100 CFU/mL kod simptomatskih
- 10000-100000 CFU/mL u čistoj kulturi-
ponoviti i/ili klinički razmotriti

?Signifikantna bakteriurija

- ŽENE: $\geq 100/\text{mL}$ + akutni simptomi;
- $< 100000/\text{mL}$ + bez simptoma negravidne-kontaminacija;
- ≥ 100000 + asimptomatske trudnice + ponovljeni uzorak-infekcija.
- MUŠKARCI: $\geq 1000/\text{mL}$ + čista kultura ili dominantna flora-značajno.
- DECA: srednji mlaz, ≥ 1000 + još jedan uzorak-značajno; $10000-100000$ + čista kultura-značajno.
- DECA, KESICA, < 10000 neznačajno, ≥ 100000 , dijagnostički korisno potrebna potvrda relevantnim uzorkom

Niskorizični bolesnici sa simptomima

- Odrasle žene sa rekurentnim dizuričnim smetnjama bez temperature i bez poznatih predisponirajućih bolesti.
- Svi ostali sa simptomima visokorizični...

Simptomatski bolesnici u “niskom riziku”

- Simptomatski bolesnici u “niskom riziku”: nije neophodno ispitivanje ako je dg jasna iz kliničke prezentacije, empirijska th na osnovu lokalne epidemiologije;
- Ako su za ove bolesnike negativni brzi testovi uraditi urinokulturu;
- Ako se simptomi izgube nije potrebno praćenje;
- Ako simptomi perzistiraju uraditi urinokulturu sa antibiogramom;
- Relapsi često posledica smanjene osetljivosti.

Pacijenti u “visokom riziku”

- Uvek raditi urinokulturu i antibiogram,
- Moguć negativan nalaz zbog učestalog mokrenja,
- Značajan broj može biti i od 100-1000 CFU/mL.

Asimptomatska bakteriurija

- Lečenje promoviše rezistenciju;
- Izuzeci su trudnice (do 5% ima), bolesnici koji treba da se podvrgnu urološkim hirurškim procedurama ako će se postoperativno stavljati trajni kateter, primaoci organa, mnogi imunokompromitovani.

Dobra mikrobiološka laboratorijska praksa

- Pravilno uzimanje, označavanje i transport uzoraka,
- Pouzdan analitički rad,
- Definisano vreme potrebno za izdavanje nalaza sa specifikovanim ograničenjima,
- Rezultati u jasnoj formi,
- Korektna interpretacija:saradnja laboratorije i korisnika.

Uputnica 1

- Ime i prezime
- Lična šifra
- Datum rođenja ako ga nema u ličnom broju,
- Odakle se šalje uzorak
- Kome se šalje nalaz
- Odgovorni lekar za kontakt
- Aktuelna antibiotska terapija
- Dodatne kliničke informacije (znakovi, simptomi, pretpostavljena dijagnoza)
- Ako nema podataka radi se **minimum ispitivanja**

Uputnica 2

- Identifikacioni broj uzorka-bar kod
- Datum i vreme uzimanja (čas i minut)
- Metod uzimanja(srednji mlaz, pojedinačna kateterizacija, trajni kateter...)
- Uspešnost pripreme pacijenta (dobro uzet uzorak, teškoće u tehnici uzimanja, češće mokrenje)
- Rezultati prethodnog ispitivanja ako su rađena (test trake, mikroskopski pregled...)