

Urocultura

Analize microbiologice	Urocultura
Specimen recoltat	urina
Recipient recoltare	urocultor – recipient de plastic, transparent, curat si uscat, cu capac, prevazut cu eticheta autocolanta cu numele pacientului, de unica folosinta.

Informatii generale

Infectiile tractului urinar (ITU) apar in urma prezentei si multiplicarii bacteriilor la nivelul uneia sau mai multor nivele ale tractului urinar, cu invazie tisulara asociata.

ITU pot fi inaparente sau manifeste printr-o mare varietate de sindroame clinice. Infectiile tractului urinar includ pielonefrita acuta si cronica (rinichii si pelvisul renal), cistita (vezica urinara), uretrita (uretra), epididimita (epididimul) si prostatita (prostata). Datorita rapoartelor anatomice infectia se poate raspandi la nivelul tesuturilor din jur (ex. abces perinefritic) sau in sange.

Principalele semne paraclinice ale ITU pe care le cautam in urina sunt: piuria (care semnaleaza inflamatia) si bacteriuria (care indica agentul etiologic).

Prelevarea urinei pentru examenul cito – bacteriologic:

I. Prelevări uzuale:

a) *proba curata prinsa in zbor din jetul mijlociu* – previne contaminarea probei cu microorganisme vehiculate de firele de par, de orice fel de particule din regiunea perineala, lenjerie sau antrenate odata cu urina din uretra distala, pliul balano-preputial sau de pe maini.

- Toaleta locala cu apa și sapun, urmata de uscarea zonei decontaminate;
- Momentul prelevării: prima urină de dimineață sau după cel puțin 3 ore de la micțiunea anterioară;

- Volumul prelevat: **20 ml** pentru izolarea cantitativă a microorganismelor condiționat patogene și **50 ml** pentru izolarea patogenilor primari;

Recoltarea la femei:

- pacienta isi scoate lenjeria intima
- isi spala mainile cu apa si sapun si le usuca cu hartie igienica
- incalca bideul
- cu o mana indeparteaza labiile mici si le mentine in aceasta pozitie pe toata durata recoltei
- cu cealalta mana sterge vulva in sens unic, din fata in spate, de 3 ori, de fiecare data cu un tampon steril cu sapun lichid
- clateste abundent, cu ajutorul irigatorului, cu apa calda sterila pentru indepartarea sapunului
- prin stergere in sens unic usuca zona decontaminata folosind 2 tampoane sterile, altfel prin pelicula de lichid pot fi antrenate in jetul de urina microorganisme din zonele nedecontaminate
- incepe mictiunea cu eliminarea primului jet, aproximativ 100 mL
- continua mictiunea (jetul mijlociu) in borcanul steril, cu precautia de a nu atinge gura borcanului de tegument sau lenjerie
- in timp ce labiile sunt inca departate si mictiunea continua, retrage borcanul.
- la pacientele cu scurgeri vaginale recolta se face pe masa ginecologica, iar dupa toaleta regiunii vulvare, asistenta introduce in vagin un tampon steril.

b) prelevarea la copilul necooperant (nn, sugar): dupa decontaminarea si uscarea organelor genitale externe + perineu se va fixa o pungă sterilă din material plastic

c) prelevarea probei prinsă în zbor din jetul mijlociu fara decontaminarea speciala a organelor genitale indicata in:

- depistarea unor patogeni primari care nu sunt rezidenti ai colonului sau uretrei distale (TBC, bacili tifici, leptospire)
- supravegherea epidemiologica a ITU cu organisme conditionat patogene (consult prenatal gravide, colectivitati sociale sau de femei)

Erori care apar la prelevarile uzuale:

- recolta in eprubeta / intr-un vas mare cu transvazarea ulterioara a probei
- prelevarea la domiciliu

II. Prelevări speciale:

- a. aspirația suprapubiană* (se realizeaza de urolog) – sunteaza cel mai eficient contaminarea uretrala a probelor de urina. Este indicata la;

- nou-nascuti, sugari, paciente adulte la cere examinarea repetata a probelor din jetul mijlociu dau rezultate echivoce
 - este singura metoda care poate stabili semnificatia clinica a bacteriilor aerobe din urina.
- b. *prelevări prin cateter* (se realizeaza de urolog)
- reduce riscul contaminarii probei, dar expune pacientul la riscul infectiei (in special la varstnici imobilizati)
 - are indicatii limitate la: pacientii necooperanti, la cei care nu mictioneaza din cauze urologice sau neurologice, pacienti cateterizati pentru explorare urologica, pacienti cu cateter a demeure.

Erori in prelevarea prin cateter:

- prelevarea direct din punca de drenaj
- cultivarea varfului cateterului colonizat cu bact din uretra (care nu sunt neaparat implicate in infectie) sau contaminat la retragerea cateterului.

Transportul si conservarea probelor

Indiferent de modul prelevării probele de urina trebuie examinate microbiologic in maxim doua ore.

Daca intervalul nu poate fi respectat, probele trebuie refrigerate la 4⁰C imediat dupa prelevare (la acesata temperatura conditia microbiologica a probei se mentine practic nemodificata maxim 24 ore).

Informatii specifice pentru examenul microbiologic al urinei:

- date de identificare a probei;
- diagnostic clinic;
- tipul prelevatului (proba curata din jet mijlociu, aspirat suprapubian);
- ora precisa a prelevării;
- daca pacientul a fost sub cura de diureza sau antimicrobiana;
- examenul solicitat (urocultura cantitativa, depistarea unui anume patogen).

Microorganismele implicate in ITU:

- *Escherichia coli* – cel mai frecvent agent etiologic;
- *Proteus mirabilis* – este asociata cu anomalii ale tractului renal, in special litiaza renala;
- *Staphylococcus saprophyticus* responsabil de aproximativ 20% din cazurile de uretrita si cistita intalnite la femeile tinere, active sexual, fara alte afectiuni. *S. saprophyticus* are o aderență crescuta la celulele uroepiteliale;

- *Corynebacterium urealyticum* a fost semnalat recent la pacienții cu tratamente prelungite cu antibiotice sau intervenții urologice;
- *Pseudomonas aeruginosa* – asociat cu anomalii structurale sau cateterizare permanentă;
- *Klebsiella*, *Enterobacter*, specii de *Proteus*, specii de *Enterococcus* – în generală asociat cu manevre instrumentale sau cateterizare;
- *S. aureus* este rar implicat în ITU și se asociază cu anomalii renale sau este implicat într-o infecție secundară bacteriemiei, intervențiilor chirurgicale sau cateterizării. Este frecvent întâlnit ca și flora de contaminare, din cauza portajului perineal.
- Colonizarea vezicii urinare cu specii de *Candida* este asociată cu prezenta cateterelor, adămur poate fi prezenta ca urmă a contaminării de la nivelul tractului genital. *Candida albicans* este specia cea mai frecvent izolată; determină uretricitite la diabeticii necontrolați metabolic.

Diagnosticul de ITU necesită adeseori coroborarea rezultatelor de laborator cu evaluarea clinică.

Obiectivele uroculturii:

- însușirea etapelor diagnosticului etiologic în infecțiile urinare;
- examenul bacteriologic al urinei în infecții produse de agenți oportuniști;
- rolul microscopiei în triajul probelor de urină și orientarea investigației microbiologice ulterioare;
- tehnicile curent utilizate pentru însămânțarea urinei: urocultura cantitativă cu pipeta gradată, urocultura cu anșa calibrată;
- rolul antibiogramei difuzimetrice în orientarea terapiei antimicrobiene în infecțiile urinare;
- diagnosticul cu patogeni I: tuberculozei renale, depistarea leptospirelor, izolarea bacililor tifici la bolnavi sau purtători.

Diagnosticul de laborator al ITU cu microorganisme oportuniste (infecții pe cale ascendentă):

Obiective:

1. confirmarea sau infirmarea dg de ITU:

- criterii rapide de diagnostic (examen citobacterioscopic al urinei):
 - examen citologic cantitativ (număr leucocite din urină, criteriu de piurie)
 - examen microscopic direct (bacterioscopia)
- urocultura cantitativă

2. stabilirea agentului etiologic

3. testarea sensibilitatii la antibiotice
4. evaluarea eficientei antibioticoterapiei

Examen macroscopic: un aspect tulbure al urinei poate sugera o ITU sau prezența de săruri.

Examen microscopic (examen citobacterioscopic al urinei) - se realizeaza in camera hemocitometrica, respectiv frotiu colorat Gram

- aprecierea calitatii probei
 - frotiu colorat Gram: leucocite, celule vezicale, celule bazinetale;
 - prezența polimorfonuclearelor neutrofile (**PMN**) pledează pentru **ITU**;
 - celule epiteliale scuamoase (CES) = markerii **contaminării vaginale**.
 - **>5 CES/ mm³ in urina omogenizata**, mai ales in asociatii levuri – bacil Gram-pozitiv, semnifica contaminare vaginala sau uretrala a probei, inacceptabila pentru urocultura cantitativa.
- aprecierea piuriei - piuria semnaleaza inflamatia.

1. preparat umed, camera Fuchs Rosenthal – urină omogenizată

- **> 10 leucocite / mm³ = PIURIE;**
- **< 3 leucocite / mm³ = lipsa piuriei;**
- **între 3 și 10 leucocite / mm³ = zonă incertă.**

2. pe frotiul colorat Gram prezenta a minim 1 Le/ camp (1000 x) = piurie.

3. la nevoie, in cazurile incerte se determina rata orara a excretiei leucocitare = proba Addis (pentru a fi piurie trebuie sa se elimine peste 400.000 Le/ora).

- aprecierea bacteriuriei (prin bacterioscopie) :

Bacteriuria – indica agentul etiologic. Prezenta bacteriilor in urina poate fi urmare a contaminarii probelor mictionate cu microbiota uretrei distale sau vulvo-vaginale, a ITU sau a colonizarii urinei vezicale cu contaminanti ocazionali.

Din urina agitata se face un frotiu cu ansa calibrata de 10 μ L (0,01mL). Se examineaza aproximativ 20 campuri; bacteriile in urina nu sunt repartizate uniform – daca nu sunt in centru, se cauta la periferia picaturii si se face o medie – este o cuantificare orientativa.

- Prezenta in medie a 1-2 *bact/camp microsc (1000 x)* de aceeași categorie microscopica corespunde la 10^5 UFC/mL (bacteriurie semnificativa).
- Prezenta a mai mult de 3 categorii morfologice (flora mixta) – marker de contaminare.

Semnificative clinic sunt:

1. bacteriuriile cu patogeni primari, indiferent de cantitatea in care sunt prezenti (sensibilitatea depistarii lor creste dupa concentrarea probelor si prin utilizarea mediilor de imbogatire);
2. bacteriuriile cu bacterii conditionat-patogene – se considera ITU cand se depaseste **pragul semnificativ clinic** de:
 - $\geq 10^5$ UFC / mL pentru bacili coliformi, piocianic, enterococi (bacterii cu mare capacitate de multiplicare in urina)
 - 5×10^4 UFC / mL pentru stafilococi si
 - 10^4 UFC / mL pentru Candida.

Prezenta PMN pledeaza pentru ITU (conform criteriului de asociatie semnificativa cu celule inflamatorii a unui microorganism din aceeasi categorie microscopica). Izolarea in cantitate mare a unui microorganism conditionat patogen in lipsa inflamatiei semnifica numai o colonizare abortiva a cavitatii din care provine proba (colonizarea urinei vezicale).

Importanta citobacterioscopiei directe a urinei:

- diferentiaza ITU de colonizarea abortiva sau contaminarea urinei;
- depisteaza prezenta bacteriilor fastidioase (*Corynebacterium* si *Haemophilus* spp.);
- orientarea antibioticoterapiei de urgenta in pielonefrite.

Interpretarea rezultatelor: în funcție de cele doua criterii:

- piurie (>10 Le/mm³, > 1 Le/ câmp imersie pe frotiu) și
- bacteriurie ($>1-2$ bact/câmp pe frotiu, ce coresp la $>10^5$ UFC/mL), avem următoarele posibilități (tabel)

1	Bacteriurie absenta < 10³ UFC/mL	Piurie absenta <10 Le/mm³	= este infirmată supoziția de ITU
2	bacteriurie : 1 singur tip de colonii: >10 ⁵ UFC/ml ptr BGN sau ≥ 5x10 ⁴ UFC/ml ptr Staf sau ≥ 10 ⁴ UFC/ml ptr levuri	piurie > 10 Le/mm³	= diagnostic cert de ITU – se precizeaza agentul etiologic și spectrul de sensibil la antibiotice dar: <ul style="list-style-type: none"> ➤ la femei cu simptome sugestive și în prezența piuriei, bacteriurie de ordinul 10⁴⁻⁵ UFC/mL cu bacilli coliformi prezenta în 2 probe confirmă rezultatul. ➤ La barbati este confirmată ITU chiar pentru pragul de ≥10³ UFC/mL bacilli coliformi. !!!absența creșterii sau bacteriurie de ordinul 10³⁻⁴ UFC/ml în concordanță cu examenul bacterioscopic direct negativ exclude la femei, ITU cu bacterii condiționat patogene. !!! dacă E coli realiz 10³⁻⁴ UFC/ml la o femeie cu sindrom uretral acut și piurie se recomandă o nouă recoltă (în aceasta concentrație bacilii corineformi, stafiloc și neisseriile nepretențioase sunt contaminanți)
3	Idem 2	Piurie absentă <10 Le/mm³	= colonizare abortivă a urinei ori probă examinată tardiv fără refrigerare imediată.
4	bacteriurie : doua tipuri de colonii fiecare cu >10 ⁵ UFC/ml	piurie > 10 Le/mm³	= pe o singură probă - cel mai frecvent este o contaminare = izolarea în cantitate semnificativă a aceluiași bacterii în a doua probă – infecție urinară mixtă – se precizează agentii etiologici și spectrul fiecăruia la antibiotice.
5	Idem 4	Piurie <10 Le/mm³	Poate fi: = urină contaminată grosier (dacă sunt mai multe tipuri de bacterii) = bacteriurie asimptomatică: în sarcină, DZ, bătrâni – se repetă recolta. = infecție urinară la debut
6	>10 ³ UFC/mL, dar <10 ⁵ UFC/mL	piurie > 10 Le/mm³	= administrare de diuretice/consum excesiv de lichide = ITU cu nerespectarea intervalului minim de 3h
7	>10 ³ UFC/mL (doua sau mai multe tipuri de colonii)	<sau > 10 Le/mm ³ , ±CES	= urină contaminată
8	<10 ³ UFC/mL	piurie > 10 Le/mm³	= administrarea prealabilă de antibiotice (infecție decapitată) = leucociturie de cauză neinfecțioasă

