

616.63—078

MODERNÍ JEDNODUCHÁ METODA BAKTERIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ MOČI

L. LANGŠÁDL, J. DVOŘÁČEK, A. JELÍNEK

Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a bakteriologie v Praze
a urologické oddělení Ústřední vojenské nemocnice v Praze

Infekce močových cest patří trvale mezi nejčastější onemocnění. Následky těchto infekcí jsou většinou dlouhodobé nebo i trvalé a vedou často k dlouhodobému snížení pracovní schopnosti nemocných; mohou vést i k jejich předčasné smrti. Při včasné a vhodném léčbě je možno těmto následkům předejít. Podmínkou je včas tuto infekci diagnostikovat. Vedle klinických příznaků, které nemusí být typické ani výrazné a nezřídka mohou zcela chybět, je prakticky hlavním a někdy jediným příznakem nález bakterií v moči — bakteriurie.

Bakteriologické vyšetření moči je proto nezbytným vyšetřením u každého podezření na infekci močových cest a mělo by se stát běžnou součástí vyšetření moči, stejně jako vyšetření na přítomnost bílkoviny a cukru. V současné době klesá dostupnost bakteriologických vyšetření moči úměrně s vzdáleností lékaře od bakteriologické laboratoře. Útvaroví lékaři často vzdálení od laboratoře mají tuto možnost vyšetření jen zřídka.

Účelem našeho sdělení je seznámit lékaře v terénu i v ústavech s metodou, která umož-

ňuje provést odběr materiálu kdekoli, popřípadě i v polních podmínkách, a odeslat poslem či poštou bez nebezpečí znehodnocení materiálu cestou. Při této metodě je možno určit nejen původce močové infekce, jejich citlivost na antibiotika, ale i odlišit významnou bakteriurii od kontaminace.

Bakterie je možno zjišťovat v moči různým způsobem: prohlížením sedimentu obarveného podle Grama, popř. různými biochemickými metodami (1, 2, 3, 4). Bakteriologické metody zůstávají však nadále jedinými opravdu přesnými metodami k zjišťování bakterií v moči. Bakteriologické vyšetření lze provést jako kvalitativní vyšetření, jež odpoví lékaři na otázku, zda je moč sterilní, či obsahuje bakterie, nebo jako kvantitativní vyšetření, které informuje nejen o druhu patogenních bakterií, ale i o jejich počtu v jednom ml moči. Tato hodnota je velmi důležitá pro správné stanovení diagnózy infekce močových cest. Samotný náález bakterií v moči pro infekci ještě nesvědčí.

Pro infekci je typický velký počet bakterií v moči. Hodnoty přibližně 10^5 bakterií v 1 ml moči a vyšší označujeme jako významnou bakteriurii. Moč je dobrým kultivačním médiem, a v močovém měchýři proto dochází k mohutnému pomnožení bakterií. V případě, že nedošlo k pomnožení v močovém měchýři, nalézáme hodnoty řádově nižší, které označujeme jako kontaminaci.

Klasická metoda kvantitativního bakteriologického vyšetření je sice nejpřesnější, ale vzhledem k její pracnosti a ceně ji nelze rutinně provádět u většího počtu vyšetření. Proto byla vypracována celá řada semi-kvantitativních metod, jež jsou méně pracné a cenově dostupnější. Společnou nevýhodou těchto metod je nutnost rychlého transportu a laboratorního zpracování do dvou hodin po odběru. Tato okolnost značně omezuje možnost provádět tato vyšetření v terénu daleko od laboratoře. Velkým pokrokem bylo vyvinutí transportního močového média (6) a tzv. „Dip slide“ metody. U těchto metod se inokulace média provádí ponořením pevného média do vyšetřované moči. Tyto metody byly vytvořeny na poznatku, že počet bakterií je v lineárním vztahu k počtu kolonií vyrostlých na pevném médiu, které bylo ponořeno do moči a pak kultivováno. Při použití plochy média 13 cm^2 dochází u kolonií bakterií v moči při hodnotách 10^5 a více v 1 ml k splývavému růstu. Při těchto ponořovacích metodách je médium nanášeno na podložní mikroskopické sklíčko (7) nebo na speciální lžičku (8). Kultivační doba počíná okamžikem inokulace média. V tomto případě je tedy vyřešen problém rychlého laboratorního zpracování. V zahraničí jsou soupravy k tomuto vyšetření moči některými výrobci vyráběny. Naše semikvantitativní metoda byla vyvinuta na základě zkušenosti s výrobky značky URICULT, firmy Orion, Helsinky.

Materiál a metoda

K jednomu vyšetření postačí jedna sterilní nádobka hranatého tvaru, používaná ve virologické technice jako tzv. nádobka Müllerova pro tkáňové kultury. Plocha jedné boční stěny činí přibližně 14 cm^2 . Dvě její protilehlé stěny jsou pokryty vrstvou agarového média. Jsou to:

1. půda „CLED“ (cystin-laktóza-elektrolyt-deficientní médium), která umožňuje růst všem močovým patogenům i náročnějším močovým saprofytům. Oproti krevnímu agaru potlačuje plazivý růst mikrobů ze skupiny *Proteus* *hauseri* a její trvanlivost je mimo to podstatně delší. Má toto složení:

pepton	4,0 g
hovězí vývar (Lab-Lemco Oxoid)	3,0 g
Trypton	4,0 g
laktóza	10,0 g
agar	15,0 g
destilovaná voda	1000 ml

Pak je nutno přidat 8 ml 1,6% roztoku L-cystinu v N/1 NaOH a 2 ml 1% roztoku bromthymol modři v lihu. Upravit pH na 7,3 pomocí N/1 HCl nebo N/1 NaOH a sterilizovat parou.

2. MacConkey Agar No 3 Oxoid ve složení:

pepton (Oxoid L 34)	20,0 g
laktóza	10,0 g
žlučové soli Oxoid L 56	1,5 g
NaCl	5,0 g
neutrální červen	0,03 g
krystalová violet	0,001 g
agar	15,0 g
destilovaná voda	1000 ml

Obě média jsou v originálním balení dovážena do ČSSR, takže je možno jejich přípravu omezit na navážení příslušného množství kompletního média a rozpuštění ve vodě. Média je však možno připravit i z tuzemských dostupných zdrojů. Rozehřáté médium naléváme do sterilních Müllerových nádobek v množství 1,5–2 ml média. Pak nádobku položíme na bok a médium necháme ztuhnout. Stejným způsobem nanášíme na protilehlou stěnu druhé nádoby. Tuhnutí média netrvá déle než 3 minuty.

Odběr moči a inokulace

K vyšetření používáme střední porce moči. Pacient zachytí střední proud moči do nádoby. K vyšetření je třeba, aby byla naplněna do dvou třetin. Inokulaci provedeme tak, že nádobku nakláníme tak, aby obě média byla smočena močí. Potom všechnu moč z nádoby vylejeme a nádobku uzavřeme. Takto je připravena k odeslání do laboratoře.

Kultivace a odečítání výsledků

Kultivujeme při 37°C minimálně po dobu 18 hodin. Kvantitativní odečítání provádíme podle tabulky 1.

Tab. 1

Počet bakterií v 1 ml moči	Počet kolonií jednoho druhu na povrchu média
sterilní	žádné kolonie
10 ³	kolonie na 25 % plochy
10 ⁴	kolonie na 50 % plochy
10 ⁵	kolonie na 75 % plochy
10 ⁶	kolonie na 100 % plochy

Identifikaci jednotlivých bakterií provádíme jednak orientačně podle růstu na jednotlivých půdách (obr. 1, 2, 3) a pomocí biochemických zkoušek. Stanovení citlivosti na antibiotika při významné bakteriurii provádíme běžným způsobem.

Výsledky

Celkem bylo provedeno srovnání výsledků naší jednoduché semikvantitativní metody a klasické titrační metody u 200 vzorků došlých do laboratoře. Výsledky získané oběma metodami ukazuje tabulka 2.

Tab. 2

Metoda	sterilní	10 ³⁻⁴	10 ⁵ a více
klasická titrační	97	63	40
naše semikvantitativní	99	60	41

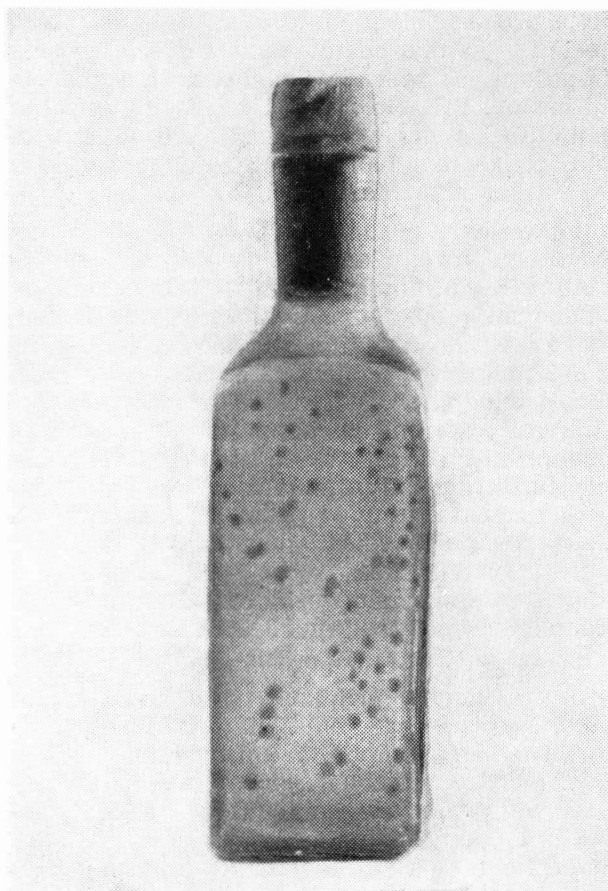
Z celkového počtu vyšetření jsme naší metodou získali v hodnotách významné bakteriurie jeden nesprávně pozitivní výsledek, tj. 0,5 %. Žádný nesprávně negativní výsledek nebyl získán.

Celkem jsme do srpna 1971 zpracovali naší metodou 350 vzorků moči. Hodnoty významné bakteriurie jsme získali u 92 vzorků, což činí 26,2 %. Zastoupení jednotlivých kmenů, které byly izolovány ze vzorků vykazujících významnou bakteriurii, ukazuje přehled:

Escherichia coli	37
Pseudomonas aeruginosa	22
Proteus mirabilis	13
Proteus vulgaris	7
Enterococcus	5
Staphylococcus pyogenes	4
Enterobacter species	4
Celkem	92

Rozprava

Semikvantitativní metoda k stanovení počtu bakterií v jednom ml moči námi vypracovaná splňuje podle našeho názoru většinu požadavků, které jsou kladeny na screeningové metody. Odběr moči a inokulaci může provést prakticky kdekoli i příslušně poučený pacient.



Obr. 1

E. Coli 10⁵ v 1 ml moči

Tato metoda nevyžaduje laboratorní zpracování do dvou hodin po odběru moči. Abychom získali co nejpřesnější výsledky, rozhodli jsme se nepoužívat běžně používaná média, ale použili jsme média CLED a MacConkey No 3 firmy Oxoid. I při použití těchto vysoce kvalitních médií je jejich cena pro jedno vyšetření 20 haléřů, což je méně než cena jednoduchého kvalitativního vyšetření moči. Ekonomickou vhodnost zvyšuje i to, že odpadá většina laboratorního zpracování, které se omezuje na uložení do termostatu a odečtení výsledků. Vlastní odečtení kvantity je snadné a po instrukcích je může provést lékař na oddělení. Při vyšetření cíleném na mikroby čeledi Enterobacteriaceae postačí kultivace za pokojové teploty.

Výsledky získané srovnáním semikvantitativní metody s klasickou titrační metodou jsou velice příznivé. Ve vzorcích vykazujících významnou bakteriurii byl získán pouze jeden nesprávně pozitivní výsledek, žádný nesprávně negativní výsledek získán nebyl (10, 11). Toto je v souladu s údaji o komerčních výrobcích URICULT a jinými (7, 9, 12).

Podle našeho názoru je tato metoda dostatečně citlivá pro použití v klinické i terénní praxi a může nahradit v plném rozsahu dosud prováděné běžné kvalitativní vyšetřování bakteriurie. Možnost vyšetření libovolně opakovat



Obr. 2
E. coli 10^4 v 1 ml moči



Obr. 3
Proteus 10^5 v 1 ml moči

v krátkém časovém rozmezí bez vyšších finančních nákladů a zbytečného zatížení laboratoře umožňuje klinickovi sledovat účinnost léčby. Použití klasické titrační metody se pak omezuje jen na případy, u kterých bylo naší metodou získáno několik pozitivních výsledků. Vzhledem k tomu, že v souboru zpracovaném naší metodou bylo zjištěno 26,2 % pozitivních materiálů a v literatuře jsou uváděny hodnoty ještě nižší, považujeme tento způsob vyšetřování za velice ekonomický.

Metodu doporučujeme i pro použití v terénní praxi. Při spolupráci hlavního lékaře s příslušným hygienicko-epidemiologickým zařízením lze této metody použít i při provádění hromadných depistážních vyšetření.

Souhrn

Autoři vypracovali jednoduchou a levnou semikvantitativní metodu, která umožňuje stanovit počet bakterií v 1 ml moči v rozmezí 10^3 – 10^7 . Touto metodou je možno získat materiál k přesné identifikaci mikrobů a jejich směsí i stanovení citlivosti vůči antibiotikům. Při srovnání s klasickou titrační metodou došli autoři k uspokojivým výsledkům. Ve vzorcích vykazujících bakteriurii byl v jednom případě získán nesprávně pozitivní výsledek, což činí

0,5 %. Žádný nesprávně negativní výsledek nebyl zjištěn. Metoda je vzhledem k uvedeným údajům vhodná jak pro použití v klinické praxi, tak i pro použití v terénu i pro hromadné depistážní vyšetření.

Literatura

1. Zaorálek, A., Květenský, J., Vnitřní lék., 14, 1968, s. 265.
2. Cruickshank, J., Moyes, J. M., Brit. Med. J., 2, 1914, s. 712.
3. Simons, L., Williams, J. D., Lancet, 1, 1967, s. 442.
4. Weiser, R., Asscher, A. W., Sussman, M., Invest. Urol., 6, 1969, s. 650.
5. Kass, E. H., Trans. Ass. Amer. Phycns., 69, 1956, s. 56.
6. Mackey, J. P., Sandys, G. H., Brit. Med. J., 2, 1965, s. 1286.
7. Guttmann, D. E., Naylor, G. R. E., Brit. Med. J., 3, 1967, s. 343.
8. Mackey, J. P., Sandys, G. H., Brit. Med. J., 1, 1966, s. 1173.
9. Pavlík, V., Navrátil, P., Prakt. lék., 51, 1971, s. 53.
10. Arneil, G. G., McAllister, T. A., Kay, P., Lancet, 1, 1970, s. 119.
11. Ay, R., Hadding, U., Acta Urol., 1, 1970, s. 84.
12. Neytcheff, S., Z. Med. Labortech., 11, 1970, s. 129.