

**Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Вологодская государственная
молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина»**

Факультет ветеринарной медицины и биотехнологии

Кафедра эпизоотологии и микробиологии

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

Методические указания к выполнению лабораторно-практической
работы для студентов факультета ветеринарной медицины и
биотехнологии 36.02.01 – Ветеринария, квалификация выпускника -
Ветеринарный фельдшер

Вологда — Молочное
2024

УДК 619:616.5(071)
ББК 48.73р30
Л 125

Рецензенты:

канд. вет. наук, доцент кафедры
эпизоотологии и микробиологии Закрепина Е.Н.;
канд. вет. наук, доцент кафедры внутренних
незаразных болезней, хирургии и акушерства Рыжакина Е.А.

Воеводина Ю.А.

Л 125 **Микробиологическое исследование мочи:** Методические указания к выполнению лабораторно-практической работы для студентов факультета ветеринарной медицины и биотехнологии по курсу: «Участие в лабораторных исследованиях в ветеринарной сфере» по специальности 36.02.01 – Ветеринария, квалификация выпускника - Ветеринарный фельдшер /Ю.А. Воеводина. - Вологда-Молочное: ИЦ Вологодской ГМХА, 2024. – 36 с.

Указания содержат краткие теоретические сведения, описание лабораторной работы, методику выполнения, задания для выполнения и список рекомендуемых источников. Особое внимание уделяется тем диагностическим методикам, которые сможет применять на практике каждый ветеринарный врач.

Издание соответствует федеральному государственному образовательному стандарту и рабочей программе дисциплины «Участие в лабораторных исследованиях в ветеринарной сфере» и предназначено для проведения лабораторных и практических занятий и организации самостоятельной работы студентов, обучающихся по специальности 36.02.01 – Ветеринария, квалификация выпускника - Ветеринарный фельдшер

Методические указания к выполнению лабораторно-практической работы рассмотрены и рекомендованы к изданию на заседании методической комиссии факультета ветеринарной медицины и биотехнологий (протокол № ___ от ___ 2023 г.).

СОДЕРЖАНИЕ

| | | |
|----|--|--|
| | ВВЕДЕНИЕ | |
| 1. | КРАТКИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ | |
| | 1.1. Классификация заболеваний | |
| | 1.2. Отбор и хранение образцов | |
| | 1.3. Принципы проведения исследования | |
| | 1.4. Оценка чувствительности к антимикробным препаратам | |
| 2 | ЛАБОРАТОРНАЯ ЧАСТЬ | |
| | 2.1. Материально-техническое обеспечение | |
| | 2.2. Преаналитический этап | |
| | 2.3. Аналитический этап | |
| | 2.3.1. Микроскопический анализ мочи | |
| | 2.3.2. Методы культурального исследования мочи | |
| | 2.3.3. Определение чувствительности изолятов бактерий к антимикробным препаратам | |
| | Тестовые задания для контроля знаний | |
| | Список литературы | |

ВВЕДЕНИЕ

Моча является водным раствором электролитов и органических веществ. Состав мочи значительно варьирует даже у здоровых животных. Анализ мочи проводят при заболеваниях мочевыделительной системы и при комплексном обследовании для общей оценки состояния животных. Бактериологический анализ мочи» выполняют для диагностики и мониторинга течения бактериальных болезней органов мочевой системы, определения чувствительности их возбудителей к антимикробным препаратам

Мочу рекомендуется исследовать у каждого больного животного, так как в ней могут быть обнаружены изменения, свойственные патологическому состоянию при отсутствии выраженных клинических симптомов. В последние годы значение лабораторных, в частности микробиологических исследований, значительно возросло. бактериологический анализ мочи выполняют для диагностики и мониторинга течения бактериальных болезней органов мочевой системы, определения чувствительности их возбудителей к антимикробным препаратам.

Воспалительных заболеваний нижних отделов мочевыделительной системы у кошек, до 64% случаев, вызваны ИЦК (идиопатический цистит кошек). Их осложнение условно-патогенными микроорганизмами, часто приводит к крайне тяжелому течению заболевания с рецидивирующим характером.

Спорадический бактериальный цистит у собак является распространенным состоянием при котором бактериальная инфекция мочевого пузыря приводит к воспалению и соответствующим клиническим признакам, которые могут включать поллакиурию, дизурию, странгурию, гематурию или комбинацию этих признаков.

Воспалительные процессы мочевыделительной системы - распространенная причина визитов в ветеринарную клинику и назначения antimicrobial препаратов как собакам, так и кошкам [1,2].

Увеличивается количество патологий, обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, причем нередко заболевания протекают крайне тяжело и заканчиваются летально.

В последнее время многие специалисты отмечают изменение микробного пейзажа выделяемых культур: стали доминировать микроорганизмы, которые ранее рассматривались как второстепенные, малозначимые. Все большее значение приобретают так называемые «госпитальные» штаммы, отличающиеся высокой устойчивостью к применяемым антибиотикам и дезинфицирующим средствам. Доказано, что основными факторами их передачи являются воздух операционных, процедурных, аппаратура и инструментарий.

Цель работы: научить студентов постановке диагноза при заболеваниях мочевыделительной системы.

Задачи работы:

- научить студентов правилам взятия и микробиологического исследования мочи
- получить навыки работы по идентификации выделенных культур микроорганизмов
- научиться трактовке полученного результата исследований

1. КРАТКИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1. Классификация заболеваний

Симптомы заболеваний, характерные для воспалительных процессов мочевыводящих путей (мочеиспускание в неподобающих местах, дизурия, гематурия, поллакиурия, странгурия) являются одними из самых распространенных причин обращений владельцев животных к

ветеринарному специалисту. Этиологическим фактором данных патологий является бактериальная инфекция, у кошек часто встречается бессимптомная бактериурия.

Бактериальные инфекции мочевыводящих путей (ИМП) у кошек моложе 10 лет встречаются редко, поражая только 1–8% этой возрастной группы. Обычно у них регистрируют патологии, не инфекционного происхождения: идиопатический цистит, мочекаменную болезнь, поведенческие расстройства. Инфекции верхних мочевыводящих путей у домашних животных клинически важны из-за возможных последствий в виде острого или хронического поражения почек и развития почечной недостаточности.

У пожилых кошек и животных имеющих в анамнезе хроническую болезнь почек (ХБП) регистрируют наибольший процент заболеваний связанных с инфекционными агентами. Бактериальный цистит у возрастной группы кошек часто осложняет течение основной патологии.

При терапевтическом подходе важно помнить, что большинство молодых кошек с симптомами заболевания нижних отделов мочевыделительной системы (LUTS) не имеют бактериального цистита [3]; в данной популяции гораздо чаще встречается идиопатический цистит или мочекаменная болезнь. Исходя из этого положения следует уделять большое внимание подтверждению инфекционного диагноза и избегать не обоснованного применения антимикробных препаратов у пациентов с небактериальными состояниями.

По статистике, инфекционные заболевания мочевыводящих путей (ИМП) встречаются примерно у 14% собак, чаще среди пожилых животных. Спорадический бактериальный цистит у собак является распространенным состоянием при котором бактериальная инфекция мочевого пузыря приводит к воспалению и соответствующим клиническим признакам, которые могут включать поллакиурию,

дизурию, странгурию, гематурию или комбинацию этих признаков. Дальнейшее исследование необходимо для назначения различных противомикробных препаратов и режимов их дозирования.

Классификация заболеваний МПС, разработанная специалистами в соответствии с Рекомендациями международного Общества по инфекционным заболеваниям животных – компаньонов (ISCAID), выделяет несколько форм МПС, в частности циститов [4]

1. Спорадический бактериальный цистит - проявляется единичными случаями, менее 3 эпизодов цистита в течение 12 месяцев. Проявляется бактериальной инфекцией мочевого пузыря, протекающий с симптомами характерными для заболевания нижних мочевых путей. Следует учитывать, что у животных с аномалиями мочевыводящих путей или иными заболеваниями (эндокринологические нарушения, заболевания позвоночника) может развиваться спорадический цистит без повышенного риска инфекционных осложнений или рецидивов.

2. Рецидивирующий бактериальный цистит – диагноз выставляется животным у которых в течение предыдущих 12 месяцев наблюдались три или более эпизода клинического цистита. Рецидивирующий бактериальный цистит может быть симптомом персистирующей инфекции или реинфекции. Оценка возможности присутствия того или иного варианта необходимо для определения плана диагностики (например, оценка очага инфекции в сравнении с причинами восприимчивости к повторным инфекциям) и терапии.

Животные с бактериурией при отсутствии клинических признаков должны диагностироваться и лечиться как животные с субклинической бактериурией [5].

1.2. Отбор и хранение образцов

Точность исследований зависит от того, каким способом, в каком состоянии и когда взята моча. Она должна быть чистой, без посторонних примесей (не отбирать из лотков с наполнителями), лучше использовать одноразовые специализированные контейнеры или пробирки. Чем меньше интервал времени между взятием мочи и исследованием, тем точнее результаты анализа.

Для лабораторного исследования собирают первую утреннюю порцию мочи, так как она накапливается ночью, когда животное меньше всего подвержено воздействию внешних факторов, влияющих на качественный и количественный состав мочи.

Способы взятия мочи:

1. Сбор мочи в заранее подготовленную посуду при естественном мочеиспускании. При получении мочи таким методом часто приходится выждать момент мочеиспускания. При этом необходимо осторожно, не пугая животное, подставлять чистый сосуд, в который улавливается испускаемая моча. Обязательно следует проводить обработку наружных половых органов перед получением образца мочи для бактериологического исследования.

2. Сбор мочи путем массажа мочевого пузыря у мелких животных через брюшную стенку, у крупных – рукой, введенной в прямую кишку. Свободно выпущенную мочу отбирают в стерильную посуду, в средней порции, в объеме 10–20 мл, если мочу собирают через лоток – он должен быть чистым, без наполнителя и тщательно промыт горячей водой.

3. Сбор мочи в мочеприемники. Применяя этот метод, можно определить суточное количество мочи.

4. Сбор мочи методом катетеризации. Длину и ширину катетера выбирают в зависимости от вида животного. Перед введением катетер

следует внимательно осмотреть на наличие на нем различных шероховатостей, трещин, царапин, чтобы избежать повреждения мочеиспускательного канала. Моча собирается в стерильную одноразовую тару: специализированные контейнеры или пробирки предупреждающие обсеменение посторонней флорой и в тоже время не допускающей рассеивания потенциально опасного материала.

6. Оптимальным методом отбора образца у мелких животных является цистоцентез, если нет противопоказаний. Проведение цистоцентеза под контролем ультразвукового исследования облегчает забор пробы и позволяет оценить мочевой пузырь на наличие аномалий (на пример уrolитов). При невозможности немедленной обработки образца его следует охладить, что сохраняет его пригодность к культивированию в течение 24 ч после сбора.

При хранении образцов при комнатной температуре с момента взятия мочи до начала ее исследования, не должно проходить более 1-2 часов. В случае хранения образцов в условиях холодильника - при 4°C, они пригодны к исследованию не более суток.

Использовать для культивирования образцы, полученные естественным опорожнением пузыря, следует только в тех случаях, когда цистоцентез противопоказан. При исследовании таких образцов высок риск получения как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. Такие образцы пригодны для культивирования если только они охлаждаются и обрабатываются диагностической лабораторией в течение нескольких часов или культивируются на месте. При сборе образца для бактериологического исследования следует выбирать емкости без консерванта (для консервации часто используется борная кислота, которая подавляет рост микрофлоры).

Если были использованы ёмкости содержащие консервант (борную кислоту) следует учитывать, что она снижает жизнеспособность и

высеваемость псевдомонад и может быть получен ложноотрицательный результат исследования.

Для транспортировки отобранной пробы можно использовать транспортировочные системы типа «Уро-тампон».



Рис. 1-Система UriSwab для сбора и консервации образцов мочи

Минимальный объем мочи, необходимый для исследования – 1 мл. Аппликатор с губкой необходимо поместить в мочу, собранную в стерильный контейнер на 5 секунд. Затем поместить пропитанную мочой губку на аппликаторе обратно в транспортный контейнер, не касаясь стенок. Плотнo закрыть крышку. Губку, помещаемую в пробирку, не отжимают. В пробирке «Уро-тампон» материал сохранен до 48 часов при температуре хранения +2°C...+8°C.



Откройте крышку контейнера, положите её на чистую поверхность (устройством для взятия мочи вверх)

Не прикасайтесь к внутренней поверхности контейнера и крышки

Соберите мочу. Контейнер наполнять не более чем за 3/4 от его объема. Закройте контейнер крышкой, повернув её по часовой стрелке.



Перед отбором пробы перемешайте содержимое контейнера. Приподнимите защитную этикетку (не снимайте этикетку полностью).

Вставьте пробирку в углубление в крышке. Осторожно надавите на нее. Удерживайте пробирку погруженной в углубление, пока она не заполнится.

Извлеките пробирку и приклейте защитную этикетку обратно на крышку. Проба готова к отправке в лабораторию.

Рис.2 - Контейнер для сбора мочи со встроенным устройством для сбора жидкости (мочи) в вакуумную пробирку и порядок его использования. Наклейка гарантирует стерильность.

Контейнер со встроенным устройством применяется для бесконтактного забора мочи и как промежуточный этап при отборе проб мочи в пробирку. Он предназначен для стерильного, бесконтактного перемещения мочи из контейнера в специальную вакуумную пробирку. Устройство взятия находится в герметично завинчивающейся крышке желтого цвета, в которой имеется отверстие под пробирку, где расположена игла, закрытая резиновым кожухом для прокалывания колпачка пробирки. Жидкость из контейнера подается за счет создающегося отрицательного давления в стерильной пробирке. Объем контейнера зависит от модели: 100 мл / 120 мл. При сборе образца для бактериологического исследования следует выбирать емкости без консерванта (для консервации часто используется борная кислота, которая подавляет рост микрофлоры).

Весь персонал выполняющий сбор, доставку образцов мочи и их анализ, должен владеть навыками техники безопасности при работе с

биологическим материалом и соблюдать соответствующие санитарные правила. Все пробы биологического материала считают потенциально опасными, содержащими патогенные микроорганизмы.

Остатки проб и контаминированные пробами объекты (контейнеры, пробирки, средства индивидуальной защиты) необходимо дезактивировать используя рекомендованные к применению в лабораториях дезинфицирующие средства, зарегистрированные в России как соответствующие требованиям безопасности дезинфектанты, в концентрации и времени экспозиции, указанных в рекомендациях по их использованию [6]

1.3. Принципы проведения исследования

Моча здорового животного - прозрачная (у непарнокопытных животных – мутная, слизистой консистенции) и не содержит микроорганизмов.

У плотоядных реакция мочи - рН – слабокислая, у жвачных и цельнокопытных – щелочная.

У самок, в мочу иногда могут попасть единичные бактериальные клетки. Причина этого - анатомическая близость наружного отверстия мочеиспускательного канала и анального отверстия. Бактериурия это нахождение микробов в моче. Она чаще всего возникает при проникновении возбудителей из очагов инфекции или при травмировании мочевыводящих путей, например вследствие катетеризации.

При бактериурии необходимо сопоставить изменения в моче и клиническое состояние животного: воспаление мочевыводящих путей сопровождается лихорадкой, ознобом; у животных с уроциститом и пиелонефритом наблюдается учащенное мочеиспускание, тахикардия. В крови изменение лейкоформулы и содержания красных кровяных телец - лейкоцитоз и анемия. Моча может становиться мутной, с гнойными

хлопьями (пиурия), иногда с примесью крови – гематурия.

Цель бактериологического анализа мочи: выделение и идентификация патогена и определение его концентрации образце (степени бактериурии), а также подбор антимикробной терапии. Этиологическую значимость выделенного при микробиологическом исследовании патогена следует оценивать сопоставляя результаты лабораторных тестов с данными анамнеза и клинического обследования пациента.

К уропатогенным микроорганизмам, вызывающим более 90% инфекций мочевой системы, относятся бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, а также *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *St. saprophyticus*, из грибов – *Candida*. По данным ряда авторов *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus spp.*, практически не вызывают инфекции МВС.

Заболевание может быть вызвано ассоциацией видов микроорганизмов.

Даже моча абсолютно здорового животного может содержать незначительное количество микроорганизмов. Они попадают из дистального отдела уретры. В связи с этим, диагностическое значение имеет оценка их концентрации (титра), выражаемая в колониеобразующих единицах в 1 мл (КОЕ/мл). Обоснован выбор методов посева позволяющих проводить количественный учет выросших микроорганизмов.

В стандартный набор питательных сред для культивирования микроорганизмов входят:

- универсальные питательные среды (кровяной агар, CLED), они обеспечивают рост грампозитивных и грамотрицательных микроорганизмов. Кровяной агар подходит для культивирования различных по требовательности к питательной среде микроорганизмов, но если в пробе

содержится высокая концентрация быстро растущих микроорганизмов, их газонный рост ингибирует формирование колоний других микроорганизмов и маскируя более медленно растущие виды, в том числе патогенные. Среда CLED ингибирует феномен роения протеев и является индикаторной на способность изолятов ферментировать лактозу.

- селективные среды (Эндо, МакКонки, колумбийский CNA агар и др.) позволяют провести индикацию отдельных групп микроорганизмов. Колумбийский CNA агар предназначен для изоляции грамположительных бактерий: стрептококки группы В: формируют бесцветные колонии, золотистый стафилококк – белые или золотистые, *S. epidermidis* – белые, *E. faecalis* – серые, *K. pneumoniae* – черные колонии.

Среды МакКонки Эндо позволяют параллельно проводить первичную дифференциацию выросших культур по способности ферментировать лактозу, по этому они хорошо подходят для выявления грамотрицательных бактерий – диагностически значимых представителей семейства Enterobacteriaceae и др.

- хромогенные среды (дифференциально-диагностические) среды облегчают качественную индикацию и ускоряют идентификацию изолятов бактерий на основании их характерной ферментативной активности, приводящей к специфическому окрашиванию растущей микробной колонии и питательной среды.

Интерпретация результатов микробиологического исследования

Проводя трактовку полученного результата бактериологического исследования мочи необходимо учитывать следующие критерии:

- оценить наличие у пациента клинических проявлений характерных для поражений мочевыделительной системы;
- соблюдение стандарта выполнения процедур при отборе,

транспортировке и исследовании (инокулированный объем, техника посева) проб мочи;

- ассоциации микроорганизмов чаще встречаются при хронических процессах и коррелируют с низкой степенью бактериурии;

- на наличие инфекционного процесса указывает повторная изоляция того же вида, типа, варианта бактерий;

- следует определять степень бактериурии при различных патологиях мочевой системы. Это необходимо для дифференцировки локализации инфекционного процесса в мочевых путях от контаминации мочи нормальной микрофлорой и сапрофитами

- результаты отдельных лабораторных исследований: количество выделенных бактерий (моно- или смешанная культура), их уропатогенность, их титр в моче. Из мочи выделяют 1 или 2 вида патогенных бактерий, соответственно. При обнаружении в посевах 3 и более морфологически различающихся колоний бактерий, это следует рассматривать как признак случайной контаминации исследуемой пробы. В этой ситуации у пациента повторно берут пробу мочи для бактериологического анализа с соблюдением правил проведения всех его этапов, предотвращающих попадание в нее посторонней микрофлоры;

- изменение степени бактериурии в процессе заболевания или лечения расценивается как прогностический признак;

- для окончательной трактовки результатов микробиологического исследования следует учитывать данные анамнеза, результаты клинического обследования пациента и другие лабораторные анализы.

В лабораторном заключении прописывается титр обнаруженных микроорганизмов, и указывается его диагностическую значимость. Исходя из этого врач формирует заключение о роли выделенного патогена в развитии инфекционного процесса: является ли выделенный микроорганизм возбудителем или это внешний контаминант. Данный

критерий варьирует в зависимости от вида животных и способа взятия материала, следовательно его нельзя считать абсолютным показателем диагностической значимости (см. таблицу 1).

Таблица 1 -Диагностическая интерпретация этиологической значимости бактерий, выделенных из мочи, по количественным критериям

| Метод отбора мочи | Микроорганизм интерпретируется как контаминант (значение КОЕ/мл) | Микроорганизм интерпретируется как этиологически значимый (значение КОЕ/мл) |
|--|--|---|
| Средняя порция при естественном мочеиспускании | $< 10^5$ | $> 10^5$ у кошек; у собак значение достоверно не определено |
| Через катетер | $< 10^3$ у кошек и самцов собак; любое значение у самок собак | $> 10^4$ у самцов собак; $> 10^3$ у кошек; любое значение у животных с постоянным катетером |
| Цистоцентез | $< 10^3$ (интерпретировать с осторожностью!) | $> 10^3$ |

В случае обнаружения грибов любое их количество рассматривается как диагностически значимое.

Титр патогена в образце может быть низким даже при наличии инфекционного процесса. Это может быть обусловлено проведением противомикробной терапии (оценивать своевременность отбора материала), низкой плотностью мочи и значением рН ниже 5 – многие патогены не переносят закисления среды, оптимальным для их развития является нейтральная или слабощелочная среда. При трактовке результатов исследования следует учитывать, что – многократные выделения одного и того же вида микроорганизмов говорят о наличии инфекционного процесса и значимости данного микроорганизма в его развитии.

Микробиологическое исследование мочи считается «золотым стандартом» при диагностике инфекций мочевыводящих путей. Не обоснованно назначенная антимикробная терапия (некорректно

выбранная группа и доза антибиотиков, кратность их применения и длительность курса лечения) может привести к нежелательным последствиям: ухудшению здоровья питомца, рецидиву заболевания, развитию устойчивости штамма к антимикробным препаратам и ухудшению прогноза заболевания.

Постановка точного диагноза – основа успешного лечения инфекций мочевыделительной системы.

Обоснованный диагноз необходим для корректного подбора антибиотического препарата и схемы его применения,. Схема формируется в зависимости не только от вида выделенных бактерий, но и от состояния пациента, присутствующих у него сопутствующих патологий. У пациентов с рецидивирующими ИМП, наличием анатомических аномалий, хронических заболеваний, при иммуносупрессии контроль эффективности антибиотикотерапии обязателен. При первичном появлении симптомов у молодой кошки, у которой не было в анамнезе травмы или катетеризации уретры, как правило, посев мочи не требуется. Нужно помнить, что вероятность выявления инфекции МВС как причины возникновения урологического синдрома кошек у молодых животных составляет 2%, а у животных старше 10 лет – 50%.

Достоверность получения результатов при бактериологическом исследовании обеспечивается соблюдением следующих принципов:

1. Квалифицированный выбор материала, подлежащего исследованию основывается на ряде положений: отбор клинических образцов с учетом характера и локализации патологического процесса, патогенеза заболевания и его стадии. Отбор пробы для микробиологического исследования рекомендуется осуществлять до начала лечения антимикробными препаратами (АМП), антисептиками, противогрибковыми препаратами или в интервалах между курсами

лечения. Для контроля эффективности антимикробной терапии исследование проводят после его окончания.

2. Пробы материала для исследования следует отбирать в объеме достаточном для анализа и сохранения образца для дополнительных (повторных) исследований при сомнительных результатах. Важно правильно выбрать транспортную среду для каждого вида исследования, способную обеспечить сохранение жизнеспособности искомым бактерий в период доставки образца.

3. Оптимальный набор питательных сред должен обеспечивать индикацию всех возможных патогенов. Он составляется с учетом вида материала, свойств искомого микроорганизма и посевных доз, а также в соответствии с методическими указаниями по проведению бактериологического исследования.

4. Соблюдение классических принципов оценки посевов.

5. Изучение фенотипических характеристик выделенных чистых культур. Оценка дифференциально значимых биохимических свойств с стандартизацией условий их определения.

6. Определение таксономического положения выделенной культуры в соответствии с задачами исследования – оценка родовой, видовой, внутривидовой принадлежности.

7. Оценка чувствительности культур к антибактериальным (антимикотическим) препаратам

8. Выделение от животного с рецидивирующей инфекцией патогена отличающегося от предыдущих выделенных микроорганизмов, указывает на наличие реинфекции, и следует предпринять усилия для выявления и устранения любых предрасполагающих к ее развитию факторов

9. При выборе антимикробной терапии при рецидивирующих и персистирующих инфекциях важно быть уверенным, что антимикробные

препараты достигают терапевтической концентрации в мочевом пузыре. Для оценки корректности изначальной терапии, следует оценить применявшиеся ранее антимикробные препараты: дозы, режим дозирования, соблюдение рекомендаций врача владельцем животного. Если выбор препарата, режима его дозирования и соблюдение рекомендаций были корректны, то следует выяснить и устранить факторы препятствующие эффективной терапии.

1.4. Оценка чувствительности к антимикробным препаратам

Чувствительность штаммов бактерий к антимикробным препаратам определяют стандартными методами: дисков, градиентно-диффузионным E-тестом и методом серийных разведений в жидких и плотных питательных средах. Выбор метода – в соответствии с методическими указаниями «4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [7, 8] и рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST) [9].

Также могут использоваться автоматические системы и применяется ПЦР тесты для скрининговых исследований на наличие генетически резистентной микрофлоры.

Определение чувствительности к антибиотикам проводят различными методами, используя стандартизованные питательные среды и стандартизованные реактивы с антибиотиками. Используют как минимум два набора антибиотиков – один для грамположительных (Гр+), другой для грамотрицательных (Гр-) микроорганизмов. Если от животного выделено несколько культур микроорганизмов, чувствительность к АБ определяется индивидуально к каждой из них. Результаты лаборатория выдает по общепринятой градации: «Ч» —

культура чувствительна к антибиотику (S – sensitive); «П» — промежуточный уровень чувствительности (I - intermedia); «У» — культура устойчива (R - resistant).

Характерная особенность современных возбудителей – частая встречаемость высокоустойчивых (мультирезистентных) штаммов микроорганизмов. Они проявляют устойчивость к действию различных групп антибиотиков – одной или сразу нескольких. Например, грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae* (к ним относятся такие распространенные возбудители как *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) образуют ферменты БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра. Эти ферменты нейтрализуют действие бета-лактамных антибиотиков (пенициллинов и цефалоспоринов). У штаммов стафилококков также существует механизм резистентности, маркерным признаком которого является устойчивость к метициллину. MRS– метициллинрезистентные стафилококки – проявляют устойчивость ко всем бета-лактамным антибиотикам.

2. ЛАБОРАТОРНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Материально-техническое обеспечение

Оборудование:

Технические средства: термостат, микроскопы, дозаторы автоматические и стерильные наконечники к ним, спиртовки, центрифуга лабораторная, счетчик колоний, пробирки стерильные, штативы, чашки Петри, предметные и покровные стекла, спиртовки, пинцеты, петли бактериологические, диски (таблетки) с антибиотиками (Е-тесты).

Реактивы: вода дистиллированная, среды питательные, физиологический раствор краски микробиологические, среды питательные, объекты исследования.

Наглядные пособия: учебные цифровые фильмы, слайды, фотографии, инструкции по работе с приборами, наставления по диагностике инфекционных заболеваний

2.2. Преаналитический этап

Идентификация образца. Оценка пригодности образца для исследования.

Контейнеры и тест-системы с пробами мочи маркируют любым доступным способом: перманентный маркер, этикетирование, электронные метки и пр., обеспечивающим точную идентификацию проб.

Все поступающие на исследование образцы должны поступать в лабораторию с оформленным сопроводительным документом (направлением, заявкой) на исследование, составленным врачом. В направлении указывают значимые данные о пациенте (пол, возраст, физиологические особенности), данные владельца, способ получения образца (взятие мочи катетером, цистоцентезом), время сбора, характеристику образца (утренний или случайный), наличие в пробах консерванта (если его использовали, то указывают название реагента и его концентрацию), предварительный клинический диагноз, использованные для лечения пациента антимикробные препараты.

Сотрудник, принимающий материал, должен проверить правильность оформления направления на исследование, маркировку, целостность контейнеров и зарегистрировать поступивший материал.

К исследованию не принимаются образцы (подлежат уничтожению в соответствии с правилами утилизации биологических отходов):

- отсутствие маркировки или несущие некорректную (не читаемую) маркировку;

- образцы без указания даты, времени и места сбора мочи или с иными отклонениями от требований по заполнению сопроводительных документов;

- доставленные с нарушением сроков и условий транспортирования, имеющие внешние отклонения от нормативных значений (гемолиз, неоднократное замораживание);

- нарушении целостности и/или герметичности контейнеров с образцами (в т.ч. пролитые пробы);

О непригодности образца необходимо немедленно уведомить врача, назначившего исследование, и рекомендовать повторное взятие материала. В ситуации, когда повторное взятие образцов у пациента невозможно, при оформлении результатов бактериологического анализа лабораторный специалист должен указать на нарушения регламента преаналитического этапа и его возможное влияние на полученный результат.

2.3. Аналитический этап

2.3.1 Микроскопический анализ

Для быстрого получения информации о наличии, количестве и типе микроорганизмов в моче используют микроскопические методы исследования. Выполняются в экстренных ситуациях как первый этап специфической диагностики, а также для определения показаний к дальнейшему обследованию.

Микроскопия нативного мазка:

1. На предметное стекло мерной пипеткой нанести 10 мкл центрифугированной пробы мочи. Перед отбором анализа образец следует хорошо перемешать. Место расположения капли обвести маркером или лабораторным мелком и высушить на воздухе.

2. Окрасить препарат стандартным методом по Граму.

3. Следует посмотреть всю площадь мазка. Микроскопируют препарат при увеличении $\times 1000$.

Учет результатов: единичная бактериальная клетка в исследуемом объеме соответствует концентрации бактерий в моче равной 10^5 клеток/мл. Присутствие в мазке слущенного эпителия в большом количестве - признак загрязнения мочи посторонней микрофлорой.

Микроскопия мазка центрифугированной пробы:

1. Пробу мочи предварительно центрифугируют 5 минут при 3500 об./мин

2. Из осадка отобрать 0,01 мл, приготовить мазок как описано выше и микроскопировать.

Учет результатов: при просмотре 10 полей зрения диагностически значимым считается обнаружение от 9-16 бактерий, т.е. в среднем 2 микроорганизма в одном поле зрения.

Слайд-планшетный центрифужный метод

предназначен:

- ✓ ускоренная диагностика тяжелой бактериурии
- ✓ обоснование эмпирической антибиотикотерапии
- ✓ сокращение числа проб, подлежащих посеву
- ✓ скрининг бессимптомной бактериурии

Данный метод считается наиболее надежным: его чувствительность при концентрации бактерий в моче 10^6 КОЕ/мл до 63%, при концентрации 10^8 КОЕ/мл достоверность - до 98%.

Слайд-планшет содержит камеры для микроскопического исследования нативных и/или окрашенных препаратов, приготовленных из биологических жидкостей. Его размер примерно соответствует размерам предметных стекол для микроскопии.

Каждая камера слайд-планшета покрыта тонкой, идеально прозрачной пластиковой пластинкой,

играющей роль покровного стекла. Расстояние между поверхностью слайд-планшета и «покровным стеклом» позволяет клеточным элементам располагаться однослойно. Для его использования требуется специальный ротор для центрифуги.

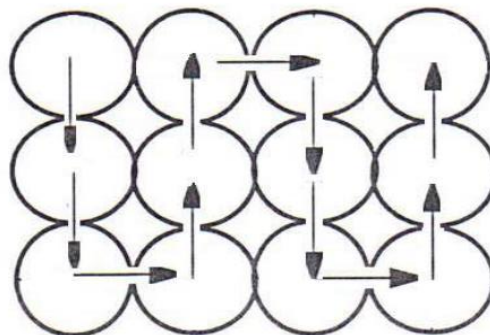


Рис. 3 - Слайд-планшет и схема микроскопирования в 12 полях зрения

Порядок работы.

1. В ячейки слайд-планшета внести хорошо перемешанные пробы мочи в объеме 200 мкл.
2. Центрифугировать планшет при 200 g в течение 5 мин (необходим специальный ротор)
3. Удалить над осадочную жидкость из ячеек используя стерильный наконечник для каждой пробы.
4. Осадок в ячейках окрасить по Граму.
5. Внести в ячейки иммерсионное масло и подсчитать число бактерий в 12 полях зрения (в соответствии с приведенной схемой).
6. Полученное число умножаем на коэффициент 5 – это и будет концентрацией бактерий в объеме мочи.

2.3.2. Методы культурального исследования мочи

Методы, применяемые для оценки титра бактерий в моче, можно разделить на две группы:

количественные (методы секторного и несекторного посевов на чашки Петри)

полуколичественные.

Количественные методы позволяют получить точный результат, но требуют значительного расхода питательных сред, трудоёмки, затратны по времени, требовательны к квалификации специалистов. Степень погрешности полуколичественных методов находится в пределах обеспечивающих достоверную интерпретацию результатов микробиологического исследования.

Количественные методы

Метод секторных посевов

Метод стандартизирован для исследования объема мочи, равного 0,005 мл.

✓ дно чашки Петри разделить на 4 равные сектора, обозначить буквами А, Б, В и Г;

✓ стерильной микробиологической петлей, диаметр петли 2,2 мм известного объёма (калиброванный на 0,005 мл), выполнить посев мочи 30-40 штрихами в секторе А;

✓ прожечь петлю и провести посева четырьмя штрихами из сектора А в сектор Б, аналогично засевают сектор В из сектора Б и из сектора В - сектор Г.

Параллельно необходимо провести посев тестируемого образца бактериологической петлей на селективные и дифференциально-диагностические среды для выделения и идентификации уропатогенов.

Отсутствие бактерий при микроскопии осадка мочи не исключает инфекцию МВС.

Посевы инкубируют при 37 °С в течение 18–24 часов, учет выросших колоний ведут по секторам. Интерпретацию результата провести согласно таблицы 2

Таблица 2 - Определение концентрации микроорганизмов в моче методом секторного посева

| А | Количество колоний в секторах | | | Титр бактерий, КОЕ/мл |
|---------------|-------------------------------|-------|-------------------|-----------------------|
| | Б | В | Г | |
| 1–6 | нр | нр | нр | $< 10^3$ |
| 8–20 | нр | нр | нр | 3×10^3 |
| 20–30 | нр | нр | нр | 5×10^3 |
| 30–60 | нр | нр | нр | 10^4 |
| 70–80 | нр | нр | нр | 5×10^4 |
| 100–150 | 5–10 | нр | нр | 10^5 |
| Сплошной рост | 20–30 | нр | нр | 5×10^5 |
| Сплошной рост | 40–60 | нр | нр | 10^6 |
| Сплошной рост | 100–140 | 10–20 | нр | 5×10^6 |
| Сплошной рост | Сплошной рост | 30–40 | нр | 10^7 |
| Сплошной рост | Сплошной рост | 60–80 | Единичные колонии | 10^8 |

Метод несекторного посева

Пробу мочи в определенном объеме вносят в центральную область питательной среды в чашке Петри. При тестировании мочи, полученной при свободном мочеиспускании, ее высевают в дозе 1мкл или 10 мкл. При исследовании мочи, полученной катетеризацией или пункцией мочевого пузыря, посевную дозу увеличивают до 100 мкл. При посеве используют автоматические дозаторы со стерильными наконечниками. Пробу определенного объема вносят автоматическими дозаторами, распределяют по поверхности среды шпателем Дригальского в ручном режиме или на автоматической вращалке. Результат оценивают согласно таблицы 3

Таблица 3 - Определение концентрации микроорганизмов в моче несекторным методом засева чашек Петри

| Объем высеванной мочи | Число выросших | Титр бактерий в моче, |
|-----------------------|----------------|-----------------------|
|-----------------------|----------------|-----------------------|

| | колоний | 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 |
| | 10 | 10 ² |
| | 100 | 10 ³ |

Полуколичественные методы

Наибольшее распространение получили погружной и штриховой методы, осуществляемые с помощью специальных приспособлений (ДипСлайда – погружной метод и ДипСтрика – штриховой метод).

Данные устройства представляют собой пластиковый контейнер, в пробку которого вмонтирована пластинка, каждая из сторон которой покрыта питательной средой. Комбинация питательных сред (дифференциально-диагностических, хромогенных, общего назначения) гарантирует изоляцию и идентификацию всех значимых бактерий, находящихся в моче с одновременной полуколичественной оценкой их титра. На пластинках используют сочетания сред: Бролацин агар, колумбийский СНА агар, среды МакКонки, UriSelect 3 или другие хромогенные среды установленные производителем диагностического комплекта. При отсутствии возможности быстро доставить в лабораторию, приспособление после засева можно хранить при комнатной температуре (но не в холодильнике) в течение не более 24 часов.

Погружной метод:

1. Открутить крышку ДипСлайда и извлекают ее вместе с пластинкой, покрытой питательными средами;
2. Полностью (до верхнего уровня питательных сред) погрузить пластинку в тестируемую пробу мочи;

3. Возвратить засеянную пластинку в контейнер, повернуть крышку на $\frac{1}{2}$ оборота (при проведении засева в лаборатории) или полностью (для транспортировки в лабораторию во избежание контаминации).

Технология ДипСлайда утрачивает эффективность при высоком титре бактерий в моче (10^7 КОЕ и выше) - получаем газонный рост, который не позволяет подсчитать число колоний.

Штриховой метод:

ДипСтрик имеет приспособление (кольцо с зубцами), обеспечивающее дозированный штриховой посев на пластинку с питательными средами. В процессе возвращения подложки в контейнер кольцо фиксируется в его верхней части (на горловине), как бы процарапывая среду при проталкивании подложки вниз, обеспечивая дозированный штриховой посев. При осмотре после посева могут быть видны легкие следы-полосы на среде.

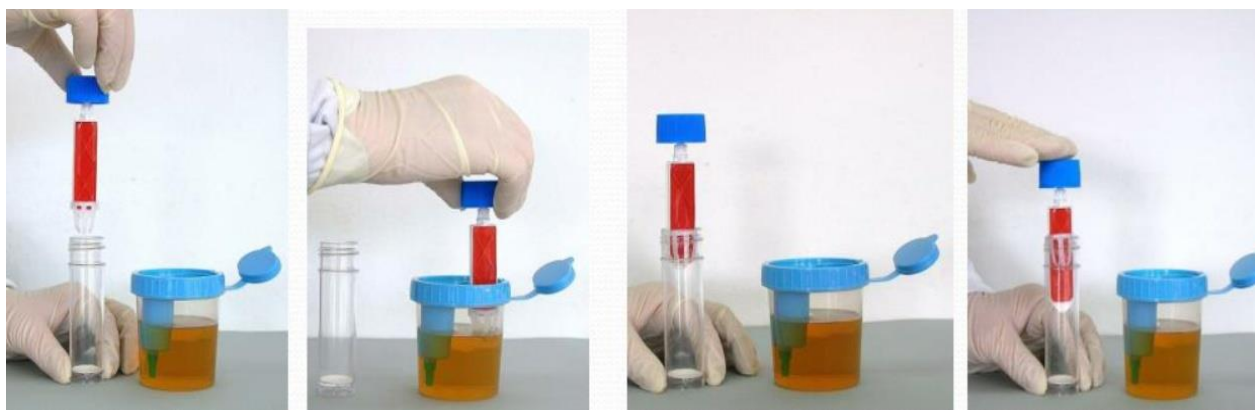


Рис. 4 - Технология посева на ДипСтрик

1. Отвинтить крышку ДипСтрика и вытащить пластинку со средами.

2. При погружении в контейнер с образцом пластинки в мочу опускают только нижнюю часть зубцов, на каждом из них останется примерно по 1,0–1,2 мкл мочи (это позволяет провести учет количества

выросших колоний с последующим пересчетом в КОЕ/мл и определить значимость титра)

3. Вернуть пластинку в контейнер, проконтролировав фиксацию кольца на его горловине, что обеспечит дозированный штриховой посев.

Засеянные устройства плотно закрутив крышку, а при засеве в лаборатории - перед постановкой на инкубацию в термостат крышку поворачивают на ½ оборота.

После инкубации подсчитывают количество выросших колоний. Сопоставляя полученные данные с шаблонами плотности роста бактерий, поставляемых производителями приспособлений, определяют титр бактерий в исследованных пробах мочи.

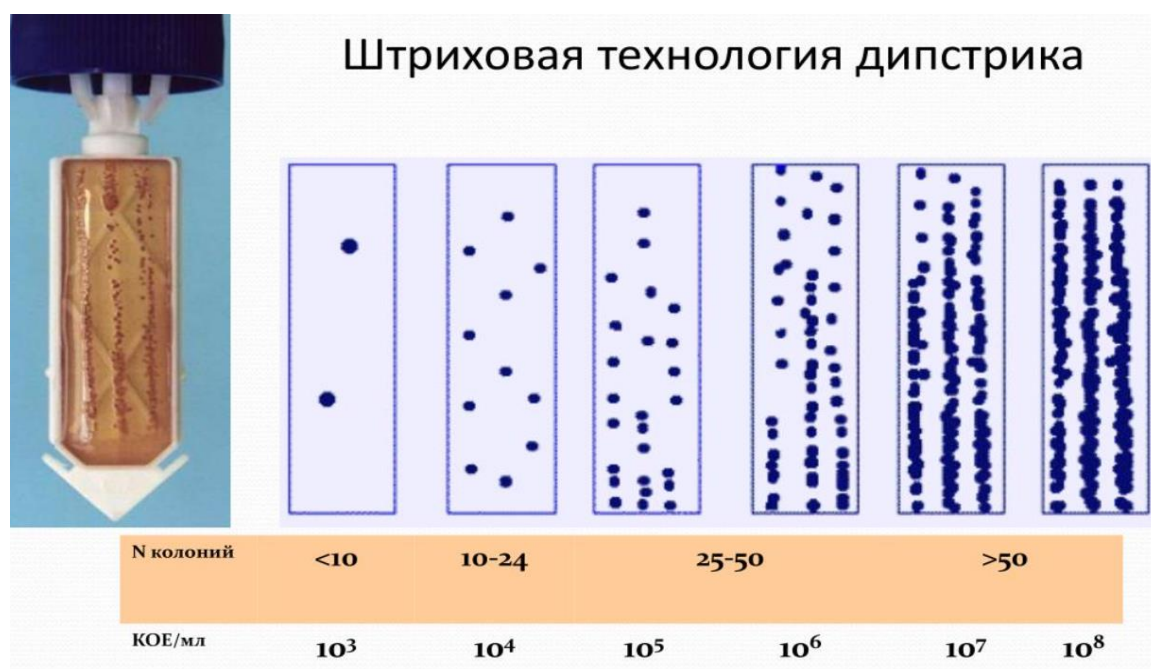


Рис.5 - Шаблон оценки плотности роста бактерий на питательных средах ДипСтрика

При установлении диагностически значимой степени бактериурии проводят идентификацию только для вероятных уропатогенов.

Минимальные морфологические и биохимические характеристики необходимые для идентификации выделенных культур, наиболее часто обнаруживаемых в моче, представлены в Приложении 1.

Для дальнейшей идентификации культур пользуются стандартными микробиологическими методами, включающими: изучение культуральных, биохимических, тинкториальных и агглютинационных свойств. Исследование ведут как в формате ручных методов, так и с использованием коммерческих панелей для визуального учета результата или для автоматических анализаторов. Возможно применять масс-спектрометрический анализ белковых профилей выделенных культур при наличии соответствующей аппаратуры (MALDI-TOF, SELDI-TOF).

2.3.3. Определение чувствительности изолятов к антимикробным препаратам

Диско-диффузионный метод (ДДМ) один из первых методов разработанных для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Не смотря на это он до настоящего времени остается наиболее распространенным в практических лабораториях. Метод пригоден для тестирования чувствительности у большинства бактериальных возбудителей, в том числе и для бактерий со сложными питательными потребностями. Метод является универсальным для широкого круга антибиотиков и не требует использования специального оборудования[10].

Методика выполнения:

Стерильные чашки Петри устанавливают на строго горизонтальную поверхность

Подготовленный в соответствии с инструкцией агар Мюллера-Хинтон (МХА) разлить в чашки. При этом глубина агарового слоя в

чашке должна быть равномерной по всему диаметру $4,0 \pm 0,5$ мм (приблизительно 25 мл в круглую чашку диаметром 90 мм, 31 мл – в круглую чашку диаметром 100 мм, 71 мл – в круглую чашку диаметром 150 мм, 40 мл – в квадратную чашку размером 100x100 мм). Это требование связано с тем, что размер и форма зоны задержки роста (ЗЗР) зависят от глубины и равномерности агарового слоя. Не выполнение этого требования может привести к получению не корректного результата.

После заполнения чашки оставить при комнатной температуре до полного застывания (уплотнение агара). При использовании свежеприготовленных чашек перед инокуляцией их необходимо подсушить, что достигается инкубацией при 37°C с приоткрытой крышкой в течение 10–20 мин.

Стерильной бактериологической петлей отобрать колонии, выросшие на неселективном агаре в течение 16-20 ч. Суспендировать полученный материал в стерильном изотоническом растворе и тщательно перемешать до получения однородной мутности. Следует постепенно добавлять культуру небольшими порциями (по 1 петле) или добавлять изотонический раствор стерильной пипеткой. Суспензию довести до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, что соответствует нагрузке $1-2 \times 10^8$ КОЕ/мл.

Нанесение культуры осуществлять стерильным хлопковым тампоном, опуская его в суспензию. Тампон следует тщательно отжать о внутренние стенки пробирки при работе с грамотрицательными бактериями. При тестировании с грамположительных бактерий тампон не отжимать. Инокуляция чашек культурами может производиться вручную: штриховым методом, равномерно распределяя суспензию на всю поверхность агара, двигая тампон в трех направлениях или с использованием автоматического вращающего устройства. Суспензия

должна быть равномерно распределена по всей поверхности агара в течение 15 минут. По истечении 60 минут после ее приготовления суспензия не пригодна для тестирования в виду возможного роста титра бактерии и получения в дальнейшем ложноотрицательного результата тестирования.

Для выкладки дисков использовать диспенсеры или стерильные пинцеты. Диски с антибиотиками должны быть нанесены на поверхность агара не позже, чем через 15 минут после нанесения бактериальной суспензии. Следует контролировать степень контакта диска с питательным агаром - он должен быть полным и плотным. После нанесения на поверхность агара диски нельзя передвигать, так как диффузия антибиотика в среду начинается очень быстро. Максимальное количество дисков на одной чашке диаметром 90 мм - не более 6 штук (на чашку диаметром 150 мм – не более 12 дисков), формируемые ЗЗР не должны перекрываться.

Чашки перевернуть дном кверху чтобы убедиться, что диски не падают с поверхности агара. Незамедлительно поставить чашки в термостат - начать инкубацию не позже, чем через 15 минут после раскладки дисков.

Учет результатов проводят через 16-20 ч. При обнаружении резистентности, зоны задержки роста не сформированы, инкубацию не продолжать. При исследовании медленно растущих культур следует продолжить инкубацию и повторить учет результатов по истечении 24 ч от момента начала инкубации.

Измерение зон задержки роста (ЗЗР) проводят с точностью до миллиметра. Для этого используют линейку или штангенциркуль. Оценку ЗЗР вокруг дисков с любыми антимикробным препаратом проводят ориентируясь на границу полного подавления роста микроорганизмов, идимую невооруженным глазом. Для чтения результата чашку Петри

располагают дном кверху над темной матовой поверхностью, крышка должна быть плотно закрыта.

Е-тест — это точный, количественный метод определения чувствительности гонококка к АМП, позволяющий определить минимальную подавляющую концентрацию (МПК) антибактериального препарата. Носителем антибактериального препарата в Е-тесте является полоска полимера (0,5 x 6,0 см), пропитанная на своём протяжении различными концентрациями антибиотика (от минимальных до максимальных). Подавление роста микроорганизмов вокруг Е-теста происходит только в том участке, где концентрация диффундирующего антибиотика выше МПК для исследуемого микроорганизма. Вокруг тест-полоски формируется своеобразный овал-капля.

Методика выполнения: метод Е-тестов

Подготовка к выполнению Е-теста аналогична методике ДДМ.

Полоски поместить на поверхность агара пластиковой поверхностью кверху - отметки градиента концентраций будут хорошо видны. Количество полосок на одну чашку зависит от ее диаметра - на чашку диаметром 90 мм наносят не более трех тест-полосок.

Результаты теста учитывают только если тест-культура выросла на питательной среде плотным газоном. Вследствии диффузии антибиотика в питательную среду вдоль всей полоски формируется зона подавления роста каплевидной формы. Величину МПК определяют в месте, где граница зоны ингибиции роста вплотную подходит к полоске.

Оценка результатов исследования данными методами представлена на рисунке 6



Рис. 6 - Измерение диаметров зон подавления роста диско-диффузионный и метод E-тестов.

Метод серийных разведений в бульоне

Общий объеме каждого разведения АБП для проведения тестирования -1 мл. Конечная концентрация исследуемого микроорганизма в каждом тестируемом разведении составляет порядка примерно 5×10^5 КОЕ/мл.

Реакция проводится в пробирках. В каждую пробирку разлить питательный бульон по 0,5 мл. Количество тест-разведений определяют в соответствии с методикой тестирования, системной принадлежностью микроорганизма и определяют необходимым диапазоном разведений АБП и увеличивают на одну для постановки "отрицательного" контроля.

Приготовить рабочий раствор антибиотического препарата. Из основного раствора антибиотического препарата готовят рабочий раствор с использованием жидкой питательной среды. Концентрацию рабочего раствора определяют в зависимости от необходимой максимальной концентрации в ряду серийных разведений.

В первую пробирку, содержащую 0,5 мл бульона, вносят рабочий раствор и тщательно перемешивают пипетированием, не допуская при этом формирования пузырей или разбрызгивания материала. Новым стерильным наконечником отбирают 0,5 мл получившегося раствора и переносят в бульон во вторую пробирку, также содержащую

первоначально 0,5 мл бульона и тщательно пипетируют. Процедуру повторяют, до приготовления всего необходимого ряда разведений. Из последней пробирки удаляют 0,5 мл бульона. Таким образом получают ряд пробирок с общим объемом реакционной смеси 0,5 мл, а концентрация растворов АБП в соседних пробирках отличается в 2 раза.

Подготовить стандартную микробную взвесь для инокуляции эквивалентную 0,5 по стандарту МакФарланда (как описано выше).

В каждую тест-пробирку с 0,5 смеси питательной среды с АБП вносят по 0,5 мл инокулюма. Готовят "отрицательный" контроль в одну пробирку с 0,5 мл питательного бульона без антибиотика вносят 0,5 мл инокулюма. Внесение инокулюма в пробирки с разведениями АБП следует провести не позднее 15-30 мин. с момента его приготовления. При тестировании нескольких культур следует подготавливать микробную взвесь по мере необходимости.

Засеянные пробирки закрывают стерильными пробками или металлическим колпачками и инкубируют при температурном режиме оптимальном для исследуемой культуры. Учет реакций проводят через 16-20 или 20-24 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма). Пробирку "отрицательный" контроль сохраняют в холодильник при +4°C, до момента учета результатов.

Учет результата тестирования проводят в проходящем свете: просматривают пробирки и отмечают наличие признаков роста: помутнение, формирование осадка, пристеночного кольца и т.д. Рост культуры в присутствии каждой концентрации АБП сравнивают с пробиркой "отрицательный" контроль. Минимальную подавляющую дозу определяют по наименьшей концентрации АБП, которая подавляет видимый рост микроорганизма.

Тестовые задания для контроля знаний

| | |
|--|---|
| <p>В большинстве случаев при инфекциях мочевыводящих путей обнаруживают</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Citrobacter 2. Pseudocitrobacter, 3. Raoultella, 4. Rosenbergiella, 5. Salmonella 6. E.Coli | <p>Для стабилизации концентрации бактерий в моче допускается использовать</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Азид натрия 2. Борная кислота 3. Этанол 4. Параформ |
| <p>В тестах системы ДипСтрик используется метод учета титра бактерий в моче</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Микроскопический 2. Штриховой полуколичественный 3. Количественный 4. Секторных посевов | <p>К минимальным идентификационным признакам золотистого стафилококка относятся</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Наличие каталазы 2. Наличие коагулазы 3. Отсутствие ДНК-азы 4. Выделение сероводорода |
| <p>Грамположительные и Грамотрицательные микроорганизмы можно выделять на средах</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Кровяной агар 2. Эндо 3. МакКонки 4. Колумбийский агар 5. CLED | <p>К минимальным идентификационным признакам энтерококков относятся</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Чувствительность к цефалоспорином 2. Способность расти в средах с высоким содержанием хлорида натрия 3. Выделение аммиака 4. Выделение сероводорода |
| <p>Диагностически значимый титр при обнаружении микроорганизмов (КОЕ/мл) в моче является самым низким при использовании способа забора мочи</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Цистоцентез 2. Катеризация 3. Сбор средней порции 4. Сбор при свободном испускании | <p>К предварительным методам наличия оценки бактерий относятся</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Микроскопические методы 2. Обнаружение продуктов метаболизма 3. Количественный штриховой метод 4. Секторный метод |
| <p>Для селективной изоляции Грамположительных микроорганизмов используется среда</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Эндо | <p>Какое количество секторов используют при данном типе посевов</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 2 сектора 2. 4 сектора |

| | |
|---|---|
| 2. МакКонки 3. Кровяной агар 4. Колумбийский агар | 3. 6 секторов 4. 8 секторв |
| Метод секторных посевов стандартизирован для объёма мочи 1. 0,005 мл 2. 0,5 мл 3. 0,1 мл 4. 0,0005 мл | При проведении слайд-планшетного центрифужного метода микроскопии подсчет числа бактерий ведут в полях зрения 1. в 2 полях 2. в 12 полях 3. в 22 полях 4. в 50 полях 5. в 10 полях |

Список литературы

1. Valle, S. F., Siqueira, F. M., & Pöpl, Á. G. (2021). Clinical and microbiological characterization of subclinical bacteriuria and sporadic bacterial cystitis in dogs with spontaneous hypercortisolism. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 75, 101624. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101624>;
2. Teh H. A review of the current concepts in canine urinary tract infections. *Aust Vet J.* 2022 Jan;100(1-2):56-62. doi: 10.1111/avj.13127. Epub 2021 Nov 14. PMID: 34775603.
3. Scott Weese, Joseph Blondeau International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats, *The Veterinary Journal*, Volume 247, 2019, Pages 8-25, ISSN 1090-0233, <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.02.008>.
4. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S109002331830460X>
5. J. Scott Weese, Joseph Blondeau, Dawn Boothe, Luca G. Guardabassi,

Nigel Gumley, Mark Papich, Lisbeth Rem Jessen, Michael Lappin, Shelley Rankin, Jodi L. Westropp, Jane Sykes, International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats, The Veterinary Journal, Volume 247, 2019, Pages 8-25, ISSN 1090-0233, <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.02.008>

6. ГОСТ Р 52905–2007 (НСО 15190:2003). "Лаборатории медицинские. Требования безопасности"

7. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (методические указания МУК 4.2.1890-04) // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2004. Т. 6, № 4. С. 306–359

8. <file:///C:/Users/user/Downloads/Opredelenie-chuvstvitelnosti-mikroorganizmov-k-antibakterialnym-preparatam-2015.pdf>

9. <https://www.antibiotic.ru/eucast/>

10. Меньшиков В.В., Козлов Р.С., Поляк М.С., Михайлова В.С., Суханова С.М., Иноземцева Л.О., Шуляк Б.Ф., Стецюк О.У., Кречикова О.И., Шепелин А.П. Стандартизованная технология «Внутрилабораторный контроль качества питательных сред для клинических микробиологических исследований»: проект // Пробл. стандартизац. в здравоохран. 2013. - № 9–10., с. 43–77