

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 489—2016

尿路感染临床微生物实验室诊断

laboratory diagnosis of urinary tract infections

2016-07-07 发布

2016-12-15 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位：中国医学科学院北京协和医院、中国人民解放军总医院第一附属医院、北京医院、上海交通大学附属瑞金医院、天津市公安医院、复旦大学附属中山医院、华中科技大学同济医学院附属同济医院、北京电力医院、香港玛丽医院。

本标准主要起草人：徐英春、窦红涛、张丽、陈雨、范欣、蒋伟、胡云建、倪语星、王金良、胡必杰、孙自镛、赵锐、梁浩钧。

尿路感染临床微生物实验室诊断

1 范围

本标准规定了尿液标本临床微生物检验的技术要求。

本标准适用于开展尿液标本细菌培养、鉴定和药物敏感性试验的微生物实验室。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

尿路感染 urinary tract infection

由各种病原体入侵泌尿系统引起的疾病。根据感染部位可分为上尿路感染(肾盂肾炎、输尿管炎)和下尿路感染(膀胱炎、尿道炎);根据有无尿路异常(如梗阻、结石、畸形、膀胱输尿管反流等)分为复杂性和非复杂性尿路感染。

2.2

白细胞尿 leukocyturia

脓尿 pyuria

新鲜尿液离心后,每个高倍镜视野白细胞超过 5 个。

3 标本采集

3.1 总则

宜采集晨尿,嘱患者睡前少喝水或不喝水,尿液在膀胱内滞留至少 4 h 以上,可降低假阴性率。无症状的患者应连续采集 3 天晨尿送检。尿液标本质量的影响因素较多,即使采用侵入性的尿液采集法仍可能被皮肤、会阴或尿道等处正常菌群污染,因此减少污染是保证尿液标本质量的关键。

3.2 清洁中段尿采集

清晨起床后用肥皂水清洗会阴部,女性应分开大阴唇,男性应上翻包皮,仔细清洗,再用清水冲洗尿道口周围。将前段的尿液丢弃,留取中段尿液约 10 mL 直接排入无菌容器中,立即送检,采集后于 0.5 h 内进行接种。尿流不畅、包皮过长或卫生条件不好的患者易造成尿液标本污染。清洁中段尿是临床最易获得的尿液标本。

3.3 耻骨上膀胱穿刺采集

评估膀胱内细菌感染的“金标准”。消毒脐部至尿道皮肤,对穿刺部位皮肤进行局麻;在耻骨联合和脐部中线部位将针头插入充盈的膀胱,从膀胱吸取约 20 mL 尿液;无菌操作将尿液注入无菌螺口杯,送至实验室。这一方法可用于诊断尿道厌氧菌感染,也是儿科患者、脊柱损伤患者和没有获得明确培养结果的患者最常用的方法。

3.4 留置导尿管采集

采用无菌技术用注射器经导尿管抽取尿液。先消毒导尿管采样口,按无菌操作方法用注射器穿刺

导尿管吸取尿液；如果需要，将导管夹闭在管中采集尿标本，但夹闭时间不能超过 0.5 h。尿液标本不能通过收集袋引流管口流出的方式采集。长期留置导管的患者进行常规尿培养意义不大，这些患者通常会培养出大量定植菌。

3.5 膀胱导尿采集

局部消毒后，采用导尿管经尿道插入膀胱收集尿液，严格采用无菌技术插入导管，避免带入细菌，弃去最开始导出的 15 mL~30 mL 尿液后再收集培养的尿液。注意避免将下尿道细菌经导管引入膀胱，导致继发性感染。

3.6 婴幼儿尿液采集袋采集

由于婴幼儿不能自主控制膀胱收缩，需要用采集袋。此法很难避免会阴部正常菌群的污染，易出现假阳性，因此该方法尿液培养结果阴性更有意义。如培养结果阳性，必要时可用膀胱导尿或耻骨上膀胱穿刺法采集尿液标本进一步确证有无尿道感染。

3.7 其他采集方法

其他不常用的尿液采集方法还包括回肠导管导尿采集、间歇性导尿管采集、肾盂造瘘术、输尿管造口术、膀胱镜检查术采集等。

4 标本标识

应注明患者的基本信息、采集方法、采集时间、临床初步诊断(需注明有无尿路感染的临床表现)、患者是否摄入过量的水以及抗菌药物使用情况等。

5 标本运送

尿液标本应尽快送到实验室，若不能及时送达，应 4℃ 冷藏或添加防腐剂(含 0.5 mL 的硼酸-甘油或硼酸-甲酸钠)，但均不能超过 24 h。加入防腐剂的尿液标本，至少采集 3 mL 尿量，以避免高浓度的防腐剂对致病微生物产生抑制或稀释作用。

6 标本接收

收集尿液容器为广口的无菌防漏容器，收到尿液标本后应立即接种。冷藏的标本不能用于淋病奈瑟菌培养。

7 标本拒收

7.1 不合格标本处理

收到不合格标本，应与临床医师联系，注明拒收的原因并退回，可要求重新留取标本，并做记录。若不合格不能重新留取尿液而需培养时，应在报告中注明，并强调此培养结果仅供参考。

7.2 标本拒收的情况

标本拒收的情况包括：

- a) 标本标识与申请单不符，标识错误或没有标识；

- b) 未提供采集时间及采集方法；
- c) 标本采集时间超过 2 h 而未 4 °C 冷藏或添加防腐剂；
- d) 标本 4 °C 冷藏或添加防腐剂但已超过 24 h；
- e) 连续收集 24 h 的尿液标本；
- f) 导尿管尖端培养；
- g) 标本取自导尿患者尿袋；
- h) 标本送检时容器有渗漏；
- i) 除耻骨上膀胱穿刺法外,采用其他方法采集标本申请做厌氧菌培养。

8 实验室检查

8.1 尿常规(与尿路感染相关指标)

8.1.1 白细胞酯酶

正常值为阴性,尿路感染时为阳性。

8.1.2 亚硝酸盐

正常值为阴性。阳性常见于大肠埃希菌等革兰阴性杆菌引起的尿路感染,阳性反应程度与尿液中细菌的数量成正比。

8.1.3 尿蛋白

正常定性为阴性,定量 <100 mg/24 h。尿路感染可有蛋白尿。

8.2 尿沉渣检查(与尿路感染相关指标)

8.2.1 人工检查

取 10 mL 尿液 RCF 400 \times g 离心 5 min,弃上清,留 0.2 mL 混匀后,计数 1 μ L 中的有形成分。白细胞计数大于正常参考区间,同时伴有上皮细胞增多提示尿路感染。吞噬细胞出现提示泌尿系统急性炎症,其数量常与严重程度密切相关。

8.2.2 仪器检查

尿液分析仪主要有 2 大类:影像式尿液有形成分分析仪,流式细胞术和电阻抗检测相结合的全自动尿有形成分分析仪。白细胞计数大于仪器正常参考区间,同时伴有上皮细胞增多提示尿路感染。但应人工检查排除干扰因素。

8.3 革兰染色镜检

观察有无细菌、多形核白细胞和扁平上皮细胞。女性尿液标本中如果存在许多扁平上皮细胞,提示标本很可能受到阴道分泌物污染,应重新送检。该方法适用于筛查有较高的菌落计数患者、大部分无症状患者以及患有肾盂肾炎的患者。为了提高在 10^4 CFU/mL 水平的敏感度,推荐细胞离心涂片后再革兰染色镜检。当革兰染色阳性时,与菌尿症相关,并且可以根据细菌形态和染色特性,帮助临床经验治疗选择抗菌药物。

8.4 尿培养

8.4.1 培养类型选择:如何接种培养尿液标本,取决于标本的采集方法、患者的症状和临床指征。尿液

标本接种要求实验室收集必要的信息,包括尿液采集方法、患者的类型(例如:泌尿科或老年病科)、临床症状、尿液常规镜检分析结果以及既往培养结果,以选择相应的培养类型,见表 1。

表 1 尿液培养类型与结果的解释

培养类型	适用人群	采集方法	培养方法	生长情况 CFU/mL	后续试验
常规	a) 门诊患者 b) 大部分非复杂性尿道感染患者	清洁中段尿	1 μL 或 10 μL 接种至血琼脂平板,麦康凯或中国蓝琼脂平板。5% CO_2 培养 18 h~24 h。若无菌生长,应延长培养至 48 h	1 种革兰阴性或阳性菌 $\geq 10^5$	鉴定+药敏
				1 或 2 种革兰阴性杆菌 $\geq 10^5$,其他菌 $\leq 10^4$	鉴定+革兰阴性杆菌进行药敏试验
				其他任何种类的细菌 $\geq 10^4$	初步鉴定
监测	a) 神经性膀胱功能障碍患者 b) 留置导尿管患者 c) 老年患者	清洁中段尿	1 μL 或 10 μL 接种至血琼脂平板,麦康凯或中国蓝琼脂平板。5% CO_2 培养 48 h	1 种革兰阴性或阳性菌 $\geq 10^4$	鉴定+药敏
				1 革兰阴性杆菌 $\geq 10^5$,其他菌 $\leq 10^4$	鉴定+革兰阴性杆菌进行药敏试验
				其他任何种类的细菌 $\geq 10^4$	初步鉴定
特殊	a) 有持续症状既往培养未发现致病菌 b) 有持续症状但治疗无效的患者 c) 怀疑为少见菌感染患者	a) 耻骨上膀胱穿刺采集 b) 膀胱导尿采集 c) 经前列腺按摩后排尿采集的尿液	10 μL 接种至血琼脂平板、巧克力琼脂、麦康凯琼脂或中国蓝琼脂。怀疑特殊病原菌感染,如厌氧菌、淋病奈瑟菌、结核分枝杆菌,应当分别选择厌氧培养、GC 琼脂及罗氏培养基。5% CO_2 培养 48 h	1 种革兰阴性或阳性菌 $\geq 10^2$	鉴定+药敏
				2 种菌 $\geq 10^2$	鉴定+革兰阴性杆菌进行药敏试验

8.5 接种方法

8.5.1 轻摇混匀尿液,将定量接种环垂直浸入尿液标本表面下 3 mm~5 mm,将标本吸至环中。

8.5.2 在血琼脂平板上划十字,再进行密集均匀涂布。

8.5.3 除接种至血平板进行定量外,还需分区划线接种至麦康凯或中国蓝琼脂平板进行菌株筛查。

8.6 病原菌同源性检测

病原菌同源性检测可协助诊断多次尿道感染的患者为复发性感染还是再发性感染(如患有反复尿道感染的女性),也可用于检测不同患者感染同一细菌克隆的情况(如可疑医院感染或社区内暴发流行)。常用的基因分型方法包括脉冲场凝胶电泳、核酸分型、多位点酶电泳、普通 PCR 或多重 PCR 分型方法。

9 抗菌药物敏感试验

9.1 抗菌药物敏感试验

对菌落计数结果有意义的临床分离菌株,鉴定到种水平并进行标准抗菌药物敏感试验,可采用微量肉汤稀释法、纸片扩散法、Etest 法或自动化药敏分析仪等。

9.2 直接抗菌药物敏感试验

直接抗菌药物敏感试验仅适用于细菌计数 $\geq 10^5$ CFU/mL 的纯培养菌,其目的是缩短报告时间,减少患者医疗花费。但需注意,该方法缺乏标准化程序,不建议作为常规药敏试验方法;不能用于混合细菌生长的标本;不适用于细菌计数 $< 10^5$ CFU/mL 的标本;由微生物实验室自行解释药敏试验结果。

10 结果解释

10.1 总述

采用 1 μ L 接种量,计数结果为平板菌落数 $\times 10^3$ CFU/mL;采用 10 μ L 接种量,计数结果为平板菌落数 $\times 10^2$ CFU/mL。建议临床医师结合尿常规结果分析尿培养结果的临床意义。

10.2 一般解释

清洁中段尿定量培养后,单种细菌菌落数 $> 10^5$ CFU/mL 可能为感染; $< 10^4$ CFU/mL 可能为污染, 10^4 CFU/mL $\sim 10^5$ CFU/mL 需要根据患者的临床表现进行评估,大部分肾盂肾炎和膀胱炎可以根据这些参数正确地予以判断。对于复杂性尿道感染可多次送检。连续 3 次清洁中段晨尿培养 $> 10^5$ CFU/mL 高度怀疑尿路感染。

10.3 不同类型尿培养的解释

不同感染类型的清洁中段尿定量培养结果相应的解释,分别见表 2 和表 3;侵入性采集标本培养结果解释见表 4。

10.4 特殊细菌感染的解释

10.4.1 采用特殊培养基并延长培养时间后分离出大量的尿道或阴道的正常菌群时,包括棒杆菌属、阴道加德纳菌、流感嗜血杆菌和副流感嗜血杆菌等,可能与尿道感染相关。

10.4.2 解脲棒杆菌(*Corynebacterium urealyticum*):较少引起尿道感染的革兰阳性杆菌。通常发生在严重免疫缺陷、泌尿道侵入性操作或长期住院的老年患者,并与肾盂肾炎有关,且在无抗菌药物治疗情况下可自动消失。

10.4.3 解葡萄糖苷棒杆菌(*Corynebacterium glucuronolyticum*):也称为生殖棒杆菌(*Corynebacterium seminale*),可引起前列腺炎和尿道炎,并能产生大量尿素酶。

表 2 社区获得性尿路感染

临床表现	白细胞尿	细菌计数 CFU/mL	病原菌种数	结果解释	是否做药敏试验
有	$\geq 10^4$ /mL	大肠埃希菌或腐生葡萄球菌 $\geq 10^3$ ； 其他菌种 $\geq 10^5$	≤ 2	a) 尿路感染(急性膀胱炎) b) 对于急性肾盂肾炎的诊断,菌落计数 $\geq 10^4$ CFU/mL考虑比较有意义 c) 对于急性前列腺炎的诊断,菌落计数 $\geq 10^3$ CFU/mL考虑比较有意义	是
有	$\geq 10^4$ /mL	$< 10^3$	—	a) 有炎症但无菌尿 b) 正在使用抗生素 c) 慢生长或难生长病原菌感染 d) 无病原菌感染	不确定
有	$< 10^4$ /mL	$\geq 10^5$	≤ 2	免疫功能正常患者:应重复做尿液细菌学和细胞学检查(可能处于尿路感染的起始阶段)	否
				免疫功能缺陷患者(如化疗或移植患者)	是
无	不确定	$10^3 \sim 10^4$	≥ 1	可能由于标本采集质量不高导致污染	否
无	不确定	$> 10^5$	≥ 2	定植	否
不确定	$< 10^4$ /mL	$< 10^3$	—	无尿路感染或定植	不确定

表 3 医院获得性尿路感染

背景	临床表现	白细胞尿	≤ 2 种病原菌菌尿 CFU/mL	结果解释	是否做药敏试验
无导尿管患者	有	$\geq 10^4$ /mL	$\geq 10^3$	尿路感染	是
			$< 10^3$	a) 有炎症但无菌尿 b) 正在使用抗生素 c) 慢生长或难生长病原菌感染 d) 无病原菌感染	不确定
	无	不确定	$\geq 10^3$	定植	否
			$< 10^3$	无尿路感染或病原菌定植	不确定
	有	$< 10^4$ /mL	$\geq 10^5$	免疫功能正常患者:重复做尿液细菌学和细胞学检查(可能处于尿路感染的起始阶段)	否
				免疫功能缺陷患者(如化疗或移植患者)	是

表 3 (续)

背景	临床表现	白细胞尿	≤2 种病原菌菌尿 CFU/mL	结果解释	是否做药敏试验
插尿管患者	有	有导尿管存在时白细胞尿没有意义	≥10 ⁵	尿路感染	是
			<10 ⁵	a) 有炎症但无菌尿 b) 正在使用抗生素 c) 慢生长或难生长病原菌感染 d) 无病原菌感染	否
	无	有导尿管存在时白细胞尿没有意义	≥10 ³	定植	否
			<10 ³	无尿路感染或病原菌定植	不确定

表 4 通过多种有创标本采集技术获取的待检尿液

采集标本的技术	临床症状	白细胞尿 ≥10 ⁴ /mL	细菌计数 mL	病原菌种数	是否做药敏试验
间歇性导尿管、肾盂造瘘术、输尿管造口术、膀胱镜检查术	有或无	不确定	<10 ²	1 或 2	否
			≥10 ²		是
耻骨上穿刺术	有或无	不确定	≥10	1 或 2	是

10.4.4 流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)和副流感嗜血杆菌(*Haemophilus parainfluenzae*): 尿道感染的发生率很低。建议在儿童的尿培养中加用巧克力平板。

10.4.5 很少引起尿路感染的细菌: 厌氧菌、放线杆菌属、乳杆菌属、α-溶血链球菌、凝固酶阴性葡萄球菌(年轻女性尿标本分离腐生葡萄球菌除外)、棒杆菌属和一些不常见革兰阴性杆菌。

11 报告结果

11.1 阴性结果

培养 48 h 无菌生长, 应报告“接种 1 μL 尿液, 培养 48 h 无菌生长(<10³ CFU/mL, 无临床意义)”, 或“接种 10 μL 尿液, 培养 48 h 无菌生长(<10² CFU/mL, 无临床意义)”。严格无菌操作如耻骨上膀胱穿刺采集的尿液, 可直接报告“培养 48 h 无菌生长”。

11.2 阳性结果

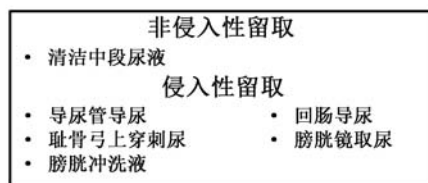
11.2.1 有明确临床意义: 报告菌落计数、细菌种名及抗菌药物敏感试验结果。

11.2.2 无明确临床意义: 报告菌落计数、革兰染色形态特征并注明纯菌或混合菌生长。

12 操作流程

操作流程见图 1。

标本采集与运送



正确运送和贮存

实验室检测

尿液定量培养

结合尿液常规分析
培养结果是否有意义

是

1. 鉴定病原菌
2. 做抗菌药物敏感性试验

否

结果报告

报告

1. 尿液接种量
2. 无菌生长结果

报告

1. 菌落计数
2. 病原菌鉴定结果
3. 标准药敏试验结果

图 1 尿路感染实验室诊断操作流程

参 考 文 献

- [1] 徐英春,倪语星,王金良,等.尿道感染实验诊断规范.上海:上海科学技术出版社,2009.
- [2] Eileen M.Burd and K.Sue Kehl.A Critical Appraisal of the Role of the Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Urinary Tract Infections.J Clin Microbiol.2011.49(9):S34-S38.
- [3] Cornaglia G,Courcol R,Herrmann JL,et al.European Manual of Clinical Microbiology,1st Edition: 133-143.ESCMID.
- [4] Clarridge JE,Johnson JR,Pezzlo MT,et al.Laboratory Dianosis of Urinary Tract Infections.cumitech 2B.American Society for Microbiology.1998: 1-2.
-