

Tilltænkt brug

En dip-slide dyrkningsmetode til at påvise mikroorganismer i urin ved diagnosticering af urinvejsinfektioner.

Funktionsprincip

Uricult Trio dip-slide systemet er baseret på tre agar medier. Den ene dip-slide side er dækket med et grønt CLED medium og den anden med både et rødbrunt MacConkey medium og et farveløst E. coli medium. CLED mediet er beregnet til at påvise det totale bakterieantal. MacConkey mediet er beregnet til at påvise gram-negative mikroorganismer. Dette medium indeholder galdesalte, som forhindrer væksten af gram-positive mikroorganismer dog undtaget enterokokker, der vokser som pinpoint kolonier. E. coli mediet er især beregnet til at påvise gram-negative, β -glucuronidase-producerende mikroorganismer, der vokser som kolonier i varierende brunlige og grålige nuancer. *Escherichia coli* er den mest almindelige forekommende β -glucuronidase-producerende mikroorganisme i urinvejsinfektioner. E. coli mediet indeholder galdesalte, som forhindrer væksten af gram-positive mikroorganismer. Enkelte gærarter kan dog vokse på E. coli mediet.

Reagenser**Indhold**

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Dip-slides	10
Patient etiketter	10
Kit insert	1

Opbevaring

Opbevar Uricult ved 7...25°C, beskyttet mod træk, temperaturudsving og lyskilder. Undgå opbevaring i nærheden af varmegenerende apparater. **Tillad ikke nedfrysning.** Udløbsdatoen er markeret på boksen.

Sikkerhedsforskrifter

Uricult Trio er kun **til in vitro diagnostisk brug**.

Det anbefales ikke at anvende produktet efter udløbsdatoen trykt på emballagen. Anvend beskyttende tøj og engangshandsker ved håndtering af prøver og test, og vask hænderne grundigt efterfølgende.

Anvend ikke Uricult Trio -rørerne, hvis mediet er misfarvet, udtørret, adskilt fra plastik dip-sliden eller har tydelig bakterie- eller skimmelvækst.

Da enhver bakterievækst på Uricult Trio er eller kan være patogen, må der ikke røres ved bakterievæksten.

Opsamling og forberedelse af prøver

Urin til bakteriel dyrkning skal helst være i blæren i mindst 4 timer forud for prøvetagning. Urinprøver til dyrkning skal tages som en midtstråleurin. Prøverne kan evt. også tages som kateterurin eller aspiration over pupes. Urinprøven bør inokuleres på Uricult Trio dip-sliden umiddelbart efter opsamling. Sliden skal så med det samme placeres i dets beskyttende plastikrør og låget skrues tæt til.

Hvis urinprøven behøver at blive opbevaret før inokulering, skal denne opbevares i køleskab ved 2...8°C og ikke længere end 24 timer. Medicinsk behandling (specielt antibiotika) kan influere på resultatet af Uricult Trio testen. Derfor skal testen ikke udføres før 48 timer efter sidste medicindosis.

Procedure

1. Skru sliden ud af plastikrøret uden at røre agaroverfladerne.
2. Hold Uricult Trio dip-sliden i låget, dyp sliden i midtstråleurinprøven, så at agaroverfladerne bliver totalt neddyppet. Ved utilstrækkelig urinnængde kan dip-sliden holdes vandret og urinen tilsættes på den opadvendte agaroverflade. Derefter vugges dip-sliden forsigtigt, indtil hele overfladen er blevet fugtet fuldstændigt med urin. Samme procedure gentages på den anden side af dip-sliden.
3. Lad overskudsurinen løbe omhyggeligt af sliden ved at placere den nederste kant af dip-sliden på kanten af urinbægeret.
4. De sidste dråber urin afdrypes på et stykke sugende papir.
5. Skru dip-sliden tilbage i røret.
6. Udfyld etiket med patientinformationer og sæt denne på plastikrøret.
7. Placer Uricult Trio oprejst i et varmeskab (36±2°C) i 16–24 timer. Uricult Trio røret kan også blive sent til laboratoriet for inkubation.
8. Antallet af kolonier (CFU/ml) aflæses ved at fjerne sliden fra plastikrøret og sammenligne kolonitætheden med modelkortet vedlagt kittet.

Note:

1. Negative kulturer og komplicerede eller kateter-associerede UTI prøver anbefales at inkubere i yderligere 24 timer for at sikre at langsomt voksende bakterier detekteres.
2. Inokuleret slide kan inkuberes straks, opbevares eller transporteres til et laboratorium for inkubation og vurdering. Opbevaring eller transportering må ikke overskride 48 timer ved 7...25°C, herefter skal Uricult Trio inkuberes ved 36±2°C i 16–24 timer. Hvis sliden har været opbevaret eller transporteret i op til 48 timer vil det kun være den tilstedeværende vækst samt kolonitætheden som skal registreres; da farvereaktionen kan være atypisk.
3. Den inokuleret slide kan inkuberes ved stuetemperatur i 1–3 dage, herefter kan positive dyrkninger blive sendt til speciallaboratorier for yderligere undersøgelse⁵. Negative dyrkninger kan blive inkuberet i yderligere 24 timer for at påvise langsomt voksende bakterier⁶.

Kvalitetskontrol

I kvalitetskontrol undersøgelser udføres efter produktionen af hvert batch nummer af Uricult Trio dip-slides. Skulle brugeren ønske at udføre sin egen kvalitetskontrol, kan følgende procedure anbefales:

1. Tilbered en 10⁵–10⁶ bakterier/ml suspension i sterilt saltvand af hver af følgende bakteriestammer:
 - a. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - b. *Escherichia coli* ATCC 25922
 - c. *Proteus mirabilis* ATCC 12453
2. Brug suspensionerne til at inokulere Uricult Trio agarsiderne, ved at anvende den anbefalede procedure.
3. Aflæs resultaterne efter 16–48 timers inkubation som følgende:

S. aureus ATCC 25923: Vækst af kolonier kun på CLED mediet. Kolonier forgærer laktose, hvilket indikeres af koloniernes gule farve og en farveændring mod gult af mediet.

E. coli ATCC 25922: Vækst af gule kolonier med en farveændring mod gult af CLED mediet og vækst af rødviolette kolonier på MacConkey mediet. Vækst af brune kolonier på E. coli mediet.

P. mirabilis ATCC 12453: Vækst af gennemsigtige kolonier på CLED mediet, med en mulighed for blåfarvning af mediet. Vækst af farveløse kolonier på MacConkey mediet. Vækst af farveløse kolonier på E. coli mediet.

Fortolkning af resultater

Efter inkubering af den inokuleret slide, vil tilstedeværelsen af bakterier være påvist som kolonier på agaroverfladen. Da en koloni er resultatet af multiplikationen af en enkelt bakteriecelle, indikerer antallet af kolonier koncentrationen af koliforme enheder (CFU/ml) i urinprøven. Koloniantallet skal bestemmes på det originale grønne CLED medium, ved at sammenligne kolonitætheden med det billede på modelkortet det ligner mest. Det er vigtigt at sammenligne antallet af kolonier, ikke deres størrelse.

Den lave elektrolyt koncentration på CLED mediet forhindrer spredningen af *Proteus* stammer. Bromthymolblåt og laktose i mediet hjælper til påvisning af laktose-forgærende bakterier. Sådanne laktose-forgærende stammer vokser som gule kolonier og ændrer farven af mediet til gul, hvorimod ikke laktose-forgærende stammer vokser som gennem-sigtige kolonier med ingen farveændring af mediet.

Det originale rød-brunlige, selektive MacConkey medium støtter væksten af gram-negative bakterier, men dog kan enterokokker vokse som pinpoint kolonier på mediet⁷. Laktose-forgærende bakterier vokser som røde og ikke laktose-forgærende bakterier som gennem-sigtige kolonier på mediet. β -glucuronidase-producerende organismer vokser som kolonier i varierende brunlige og grålige nuancer på det farveløse E. coli medium^{8,9}. β -glucuronidase-negative, gram-negative bakterier vokser som gennem-sigtige kolonier på dette medium.

Når bakterieantallet er højt ($\geq 10^7$ CFU/ml) i urinen, bliver agaroverfladerne totalt dækket af sammenflydende vækst. Dette kan fejltolkes som et negativt resultat. Derfor skal enhver overflade som synes negativ aflæses under reflekterende lys; manglende refleksion ved aflæsning kan medføre at sammenflydende vækst overses. En godt lys hjælper også til at påvise meget små kolonier.

En blanding af forskellige bakteriearter på Uricult Trio skyldes sandsynligvis kontaminering af urinprøven.

Procedurens begrænsninger

Uricult Trio er i stand til at bestemme bakterie koncentrationer mellem 10³ og 10⁷ CFU/ml. Ved hjælp af modelkortet skønnes koloniantallene til den nærmeste potens af 10. Når modelkortet bruges ifølge instruktionerne, viser koloniantallene en 99% korrelation med den konventionelle dyrkningsmetode¹.

Forventede værdier

Følgende værdier er baseret på ECLM-EUG European Urinalysis Guidelines (2000).

Prøvetagningsmetode klinisk status	Signifikant koloniantal (CFU/ml)
Midtstråleurin, stået i blæren < 4 timer, symptomatisk patient	$\geq 10^3$
Midtstråleurin, stået i blæren > 4 timer	$\geq 10^{4-5}$
Kateterprøve fra mand	$\geq 10^3$
Kateterprøve fra kvinde	$\geq 10^4$
Ikke symptomatisk bakteriuri	$\geq 10^5$
Blærepunktur prøve	Al vækst

Bemærk: I visse tilfælde kan urin som har stået i blæren < 4 timer vise kliniske signifikante koloniantal under 10³ CFU/ml.

Funktionskarakteristik

Uricult • CLED medium

Arneil, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121⁶.

Antallet af prøver	140	Referencemetode:
Sensitivitet	100 %	Agarplade
Specificitet	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Bortskaffelse

- Bortskaf indholdet i henhold til national og lokal lovgivning.
- Alle patientprøver og brugte komponenter skal håndteres og bortskaffes som potentielt infektiøst materiale.
- Materialer af komponenterne:
 - Papir: Brugsanvisning
 - Karton: Kit æske
 - Plast: Rør, hætter og dipslides
- Når de anvendes i overensstemmelse med god laboratoriepraksis, god arbejdshygiejne og brugsanvisningen, må de leverede reagenser ikke udgøre en sundhedsfare.