

Intended use

A dipslide culture method for diagnosing urinary tract infections by demonstrating microbes in urine.

Principles of the procedure

The Uricult Trio dipslide system is based on three agar media. One side of the plastic slide is covered with green CLED medium and the other with both reddish-brown MacConkey medium and a colourless E. coli medium. The CLED medium is intended for determining the total bacterial count. The MacConkey medium is intended for detecting gram-negative organisms. This medium contains bile salts that prevent the growth of gram-positive organisms other than enterococci which may grow as minute colonies. The E. coli medium is intended especially for detecting gram-negative, β -glucuronidase-producing organisms which grow as colonies in various shades of brown or grey on this medium. *Escherichia coli* is the most common β -glucuronidase-producing organism encountered in urinary tract infections. Bile salts contained in the E. coli medium prevent the growth of gram-positive organisms on it. Certain yeasts do grow on the E. coli medium, however.

Reagents**Contents**

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Dipslides	10
Patient labels	10
Instructions for use	1

Storage

Store Uricult Trio at 7...25°C protected from draught, temperature fluctuations and light sources. Avoid storage near heat-generating appliances.

Do not allow to freeze. The expiry date is marked on the box.

Warnings and precautions

Uricult Trio is for **in vitro** diagnostic use only.

Do not use the product beyond the expiry date marked on the box. Wear protective clothing and disposable gloves while handling samples or tests, and wash hands thoroughly afterwards.

Do not use the Uricult Trio if you detect discoloration or dehydration of the agar, separation of the growth media from the plastic slide or evidence of bacterial or fungal growth.

Because any colonies growing on Uricult Trio are actual or potential pathogens, do not touch the growth.

Sample collection and preparation

Ideally, urine for bacterial culture should remain in the bladder for four hours prior to sampling. Urine samples may be obtained by voiding (clean-voided midstream urine), catheterisation or suprapubic aspiration. The sample should be inoculated onto the Uricult Trio slide immediately after collection. The slide should then at once be returned into its protective tube and the cap closed tightly.

If the urine sample needs to be stored prior to inoculation, it should be maintained refrigerated at 2...8°C no longer than 24 hours.

Uricult Trio test results may be affected if the patient has received anti-infective treatment. The test should not be performed until 48 hours after the final dose of medication.

Procedure

1. Unscrew the slide from the tube without touching the agar surfaces.
2. Holding Uricult Trio by the cap, dip the slide into freshly voided midstream urine so that the agar surfaces are totally immersed. If the volume of urine is too small for this, the agar surfaces can be wetted by pouring urine on them, followed by tilting to ensure complete wetting.
3. Allow excess urine to drain from the slide.
4. Blot the last drops on absorbent paper.
5. Screw the slide tightly back into the tube.
6. Fill in the patient label and attach it to the tube.
7. Place the tube upright in an incubator (36±2°C) for 16–24 hours. The tube may also be sent to a laboratory for incubation.
8. To obtain a colony count (CFU/ml), remove the slide from the tube and compare the colony density with the model chart provided in the kit.

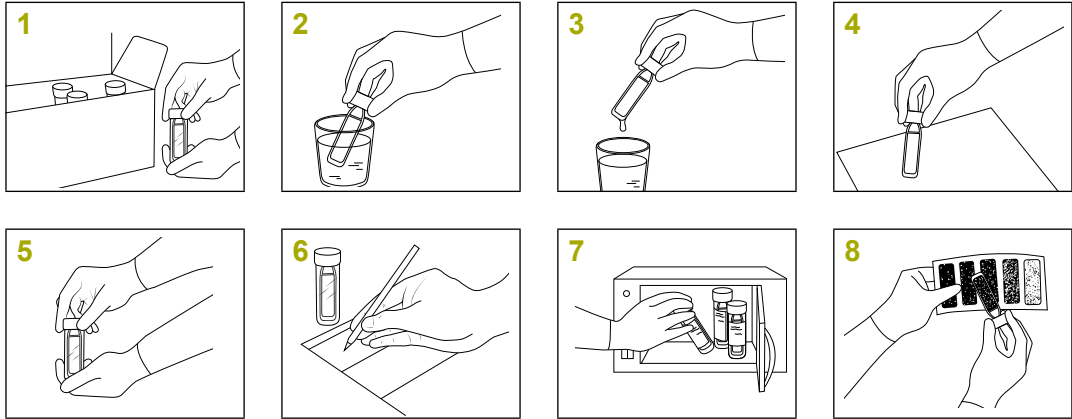
Note:

1. Negative cultures and complicated or catheter-associated UTI samples are recommended to always be incubated for an additional 24 hours to ensure that slow-growing bacteria are detected.
2. The inoculated slide may be incubated immediately or stored or transported to a laboratory for incubation and interpretation. Storage or transportation should not exceed 48 hours at 7...25°C; after which Uricult Trio should be incubated at 36±2°C for 16–24 hours. If the slide has been stored or transported for up to 48 hours, only the presence of growth and the colony count should be recorded from it; the colour reaction may be atypical.
3. The inoculated slide may be incubated at room temperature for 1–3 days, after which positive cultures may be sent to a specialised laboratory for further investigation⁵. Negative cultures may be incubated for additional 24 hours to detect slow-growing bacteria⁶.

Quality control

Quality control tests are performed on each lot of Uricult Trio dipslides at the time of manufacture. Should the user wish to perform his own quality control, the following procedure is recommended:

1. Prepare a 10⁵–10⁶ bacteria/ml suspension of each of the following bacteria in sterile saline:
 - a. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - b. *Escherichia coli* ATCC 25922
 - c. *Proteus mirabilis* ATCC 12453



Model Chart • Tableau de référence • Standardbildkarte • Tablas de referencia • Tabela de Referência
Tavola di riferimento • Πρότυπος πίνακας αναφοράς • Modelová tabulka • Referenčná tabela • Modelkort
Avlesningsmal • Tolkningsmall • Mallitaulu

Cled

CFU/ml

10³10⁴10⁵10⁶10⁷**MacConkey**

CFU/ml

10³10⁴10⁵10⁶10⁷**E. coli**

Typical formulation • Formules • Typische Formulierung • Fórmula típica • Fórmula típica • Formulazione típica • Τυπική Σύσταση • Typické složení • Sestava gojišč • Agar indhold • Agar sammensetning • Sammansättning • Koostumus

CLED medium	MacConkey medium	E. coli medium
Peptone	Peptone	Peptone
Meat extract	Lactose	MgSO ₄
Lactose	Neutral red	MnCl ₂
L-Cystine	Bile salts	Fe(III) citrate
Bromthymol blue		Bile salt mixture
		8-hydroxyquinoline
		β-D glucuronide

Literature • Bibliographie • Literatur • Bibliografia • Referências Bibliográficas • Bibliografia • Βιβλιογραφία • Literatura • Referenser • Littératur • Kirjallisuus

1. McAllister TA, Arnell GC, Barr W, Kay P: Assessment of plain dipslide quantitation of bacteriuria. Nephron 11: 111–122, 1973.
2. Kass EH: Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. Archives of Internal Medicine 100: 709–714, 1957.
3. Mackey JP, Sandys GH: Laboratory diagnosis of infections of the urinary tract in general practice by means of a dip-inoculum transport medium. British Medical Journal 2: 1286–1288, 1965.
4. NCCLS Publication M22-A: Quality Assurance Standards for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved standard. Volume 10: 14, 1990.
5. Ekman et al.: Streptocult- ja Uricult-levyjen käyttö päivystysaikana. Aesculapius 11–12, 1985.
6. Arnell GC: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17: 119–121, 1970.
7. Granato PA: Evaluation of a dip slide device for enumeration of bacteria in urine. Laboratory Medicine Vol. 11, No 4: 246–250, 1980.
8. Dale F, Segovia T: Evaluation of a New Agar in Uricult Trio for Rapid Detection of *Escherichia coli* in Urine. J. Clin. Microbiol. 1395–1398, 1995.
9. Larinkari U, Rautio M: Evaluation of New Dipslide with a Selective Medium for the rapid detection of Beta-Glucuronidase-Positive *Escherichia coli*. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Vol. 14: 606–608, 1995.

Explanation of symbols • Explication des symboles • Zeichenerklärung • Explicación de los símbolos Explicação de símbolos • Spiegazione dei simboli • Επεξήγηση των συμβόλων • Vysvětlivky použitých symbolů Pojasnila simbolov • Symbolforklaring • Förklaring på symboler • Förklaring av symboler • Symbolien selitykset

IVD

In vitro diagnostic medical device
Dispositif médical de diagnostic in vitro
In-vitro-Diagnostikum
Producto sanitario para diagnóstico in vitro
Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
Dispositivo medico-diagnostico in vitro
ιστροτεχνολογική βοήθημα που χρησιμοποιείται για διάγνωση in vitro
Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
Diagnostická zdravotnická pomůcka in vitro
Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
Medicinsk utstyr for in vitro-diagnostik
Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik
In vitro -diagnostikkäanne tarkoittettu lääkinällinen laite

REF

Catalogue number
Référence
Bestell Nr.
Número de catálogo
Número de catálogo (n°)
Código
Αριθμός καταλόγου
Kataloĝové číslo
Kataloška številka
Bestellingsnummer
Bestellingsnummer
Artikelnummer
Tuotenumero

LOT

Batch code
Número de lot
Lot. Nr.
Número de lote
Número de lote
Císlo šarže
Serijaska številka
Batchcode
Lotnummer
Batch nr.
Eräkoodi

TEMP

Temperature limitation
Limites de température
Temperaturbegrenzung
Limitación de temperatura
Limites de temperatura
Limiti di temperatura
Περιορισμοί θερμοκρασίας
Teplotní omezení
Teplotné rozmedzie
Temperaturbegrensning
Temperaturbegrensning
Temperaturbegrensning
Lämpötilarajat

USE

Use by
à utiliser jusqu'à
Verwendbar bis
Fecha de caducidad
Utilizar até
Utilizzare entro/Scadenza
Χρησιμοποιήστε έως
Použitelné do
Uporabno do
Udløbsdato
Brukes innen
Används före
Käytettävä ennen

MAN

Manufacturer
Fabricant
Hersteller
Fabricante
Produttore
Productore
Κατασκευάζεται από
Výrobce
Proizvajalec
Fabrikant
Produsent
Tilverker
Valmistaja

INFO

Consult instructions for use
Consulter la notice d'utilisation
Gebruiksaanwijzing beachten
Consultarse las instrucciones de uso
Consultar as instruções de utilização
Consultare le istruzioni per l'uso
Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
Viz návod k použití
Sled návodů za uporabo
Se bruksanvisningen
Se bruksanvisningen
Läs bruksanvisningen
Katso käyttöohjeita

Σ

Sufficient for
Suffisant pour
Ausreichend für
Válido para
Suficiente para
Sufficiente per
Επαρκές για
Dostatečné pro
Zadovoljivo za
Tilstrækkeligt til
Tilstrækkelig for
Räcker till
Lukumaära

PROT

Protect from draught and temperature fluctuations
Conserver à l'abri des courants d'air et des fluctuations de température
Vor Zug und Temperaturschwankungen geschützt lagern
Proteger de las corrientes de aire y cambios de temperatura
Proteger das correntes de ar e variações de temperatura
Proteggere da correnti d'aria e variazioni di temperatura
Προστατέψτε από ξηρασία και μεγάλες μεταβολές θερμοκρασίας
Chráněť před vysušením a kolísáním teploty
Zavarujte pred prehlom in temperaturnimi nihanj
Beskyttes mod trekk og temperatursvingninger
Beskyttes mot trekk og temperatursvingninger
Undvik drag och temperaturvariationer
Suojattava vedolta ja lämpötilan vaihteluilta

CH/REP

Authorised representative in Switzerland
Représentant autorisé en Suisse
Autorisierter Vertreter in der Schweiz
Rappresentante autorizzato in Svizzera
Representante autorizado en Suíza
Representante autorizado na Suíça
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ελλάδα
Autorizovaný zástupce ve Švýcarsku
Pooblaščený zástupník v Švicu
Autoriseret repræsentant i Schweiz
Auktoriseret representant i Sveits
Valtuutettu edustaja Sveitsissä

Uricult® is a registered trademark of Aidian Oy.

Application

Uricult® Trio est une lame immergée pour la détection d'une infection urinaire mettant en évidence la présence de germes dans l'urine.

Principe opérationnel

La lame Uricult Trio comporte 3 milieux gélosés: un milieu vert CLED, un milieu brun rougeâtre MacConkey et un milieu incolore E. coli. Le milieu CLED est conçu pour la détermination de la numération des germes. Le milieu MacConkey contient des sels biliaires qui inhibent la croissance des bactéries à gram-positif à l'exception des entérocoques qui peuvent se présenter comme des petites colonies. Ce milieu favorise la croissance des organismes à gram-négatif. Le milieu E.coli permet la détection des bactéries à gram-négatif et des bactéries produisant de la glucuronidase β. Celles-ci se présentent sous forme de colonies brunes ou grises de différentes nuances. *Escherichia coli* est la bactérie produisant de la glucuronidase β la plus fréquemment rencontrée dans les infections urinaires. Les sels biliaires contenus dans le milieu E.coli empêche la croissance des bactéries à gram-positif. Cependant, certaines levures peuvent croître sur ce milieu.

Réactifs

Contenu du coffret

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Lames immergées	10
Étiquettes	10
Notice d'utilisation	1

Conservation

Conservier Uricult Trio entre +7°C et +25°C. Protégé de la poussière, des fluctuations de température et sources lumineuses. Évitez le stockage près des appareils produisant de la chaleur. **Ne pas congeler**. La date d'expiration est marquée sur la boîte.

Avertissements et precautions

Uricult Trio est uniquement destiné au **diagnostic in vitro**.

Ne pas utiliser le produit au delà de la date de péremption inscrite sur le coffret. Porter des vêtements de protection et des gants jetables mors de la manipulation des échantillons ou des tests, et laver soigneusement les mains ensuite.

Ne pas utiliser Uricult Trio si l'on observe une décoloration, une déshydratation de la gélose, si les milieux se détachent du support plastique ou s'il y a une croissance bactérienne ou fongique.

Ne pas toucher la lame. Les colonies présentes sur Uricult Trio peuvent être pathogènes ou potentiellement infectieuses.

Prélèvement et conservation des échantillons

Il est préférable de recueillir l'urine après une stagnation dans la vessie de 4 heures. Les échantillons d'urine peuvent être obtenus soit avec de l'urine de milieu de jet, soit par sondage, soit par aspiration suprapubienne.

Ensemencer la lame Uricult Trio immédiatement après le prélèvement. Remplacer ensuite la lame dans le tube, et refermer soigneusement le bouchon. Si l'échantillon d'urine doit être conservé avant ensemencement, il faut le conserver au réfrigérateur (+2...8°C) 24 heures maximum.

Les résultats d'Uricult Trio peuvent être altérés si le patient reçoit un traitement anti-infectieux. Ne pas effectuer le test avant les 48 premières heures qui suivent la fin du traitement.

Procédure

- Dévisser la lame du tube sans toucher les surfaces de la gélose.
- En tenant Uricult Trio par le bouchon, immerger Uricult Trio dans l'échantillon, de façon à ce que les trois surfaces de la gélose soient totalement immergées. Si le volume d'urine est trop petit, verser l'urine sur les surfaces de la gélose et incliner la lame pour s'assurer d'une inoculation complète.
- Laisser l'excès d'urine s'écouler de la lame.
- Se débarrasser des dernières gouttes sur un papier absorbant.
- Visser fermement la lame dans le tube.
- Remplir l'étiquette au nom du patient et la coller sur le tube.
- Placer verticalement le tube dans une étuve (36±2°C) pendant 16 à 24 h. Le tube peut aussi être envoyé au laboratoire pour incubation.
- Pour effectuer la numération des colonies (CFU/ml), sortir la lame du tube et comparer la densité des colonies à celle du tableau de référence.

Remarques:

- Nous recommandons pour les cultures négatives et difficiles ou pour les échantillons issus de cathéters, de poursuivre la culture pendant 24 heures supplémentaires afin de s'assurer que des bactéries à croissance lente puissent être détectées.
- La lame inoculée peut être incubée immédiatement, conservée, ou transportée au laboratoire pour incubation et interprétation. La conservation ou le transport ne doivent pas dépasser 48 h à +7...25°C. Au-delà de ce délai, Uricult Trio doit être incubé à +36 ± 2°C pendant 16 à 24 h. Si la lame a été conservée ou transportée plus de 48 h, seule la numération des colonies doit être retenue car les réactions colorées peuvent être atypiques.
- La lame inoculée peut être incubée à température ambiante pendant 1 à 3 jours. Les cultures positives doivent être envoyées à un laboratoire spécialisé pour une investigation plus complète⁶. Les cultures négatives peuvent être incubées 24 heures supplémentaires, pour détecter les bactéries à croissance lente⁶.

Contrôle de qualité

Des tests de contrôle de qualité sont effectués sur chaque lot d'Uricult Trio, au moment de la fabrication. Si l'utilisateur veut effectuer son propre contrôle, la procédure suivante est recommandée:

- Préparer une suspension bactérienne de 10⁵-10⁶ bactéries/ml (NaCl 0,9%) pour chacune des bactéries suivantes:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Utiliser les suspensions pour ensemencer les lames immergées Uricult Trio, en suivant le protocole habituel.

Uricult® Trio

Verwendungszweck

Ein Kulturverfahren mit Eintauchnährmediumträgern für die Diagnostik von Harnwegsinfektionen durch Keimnachweis im Harn.

Verfahrensprinzipien

Das Uricult Trio-Eintauchnährmediumträger-System beruht auf drei Agarmedien. Eine Seite des Kunststoffträgers ist mit grünem CLED-Nährmedium, die andere mit einem rotbraunen MacConkey-Nährmedium sowie einem farblosen Nährmedium für E. coli beschichtet.

Das CLED-Nährmedium ist zur Bestimmung der Gesamtkeimzahl vorgesehen, während das McConkey-Nährmedium zum Nachweis Gram-negativer Keime bestimmt ist. Dieses Nährmedium enthält Gallensalze, die das Wachstum Gram-positiver Keime, abgesehen von Enterokokken verhindern, die als stecknadelkopfgroße Kolonien wachsen können. Das Nährmedium für E. coli ist speziell zum Nachweis Gram-negativer, β-Glucuronidase bildender Keime vorgesehen, die auf diesem Nährmedium als Kolonien in verschiedenen Braun- oder Grauschattierungen wachsen. *Escherichia coli* ist der am häufigsten vorkommende β-Glucuronidase bildende Erreger, dem bei Harnwegsinfektionen begegnet wird. In dem Nährmedium für E. coli enthaltene Gallensalze verhindern das Wachstum Gram-positiver Keime. Auf dem Nährmedium für E. coli wachsen jedoch bestimmte Hefen.

Reagenzien

Inhalt

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Eintauchnährmediumträger	10
Patientenetiketten	10
Gebrauchsanweisung	1

Lagerung

Lagern Sie Uricult Trio bei 7... 25°C, geschützt vor Feuchtigkeit, Temperaturschwankungen und Lichtquellen. Vermeiden Sie die Lagerung in der Nähe von Wärme erzeugenden Geräten. **Nicht einfrieren**. Das Ablaufdatum ist auf der Verpackung angegeben.

Warn- und Entsorgungshinweise

Uricult Trio ist nur für die Anwendung als *in-vitro*-diagnostikum bestimmt. Das Produkt darf nicht über das auf der Packung angegebene Verfalldatum ("Verw. bis") hinaus verwendet werden. Bitte Schutzkleidung und Einmalhandschuhe während des Gebrauchs von Proben und Teste tragen, und anschließend Hände waschen.

Uricult Trio darf bei Nachweis einer Verführung oder Schrumpfung (Dehydratation) des Agars, Trennung des Wachstumsmediums von dem Kunststoff-Nährmediumträger oder Anzeichen von Bakterien- oder Pilzwachstum nicht verwendet werden.

Da es sich bei allen auf Uricult Trio wachsenden Kolonien um pathogene oder potenziell pathogene Keime handeln kann, dürfen die bewachsenen Agaroberflächen nicht berührt werden.

Probennahme und Probenvorbereitung

Harn zum Anlegen von Bakterienkulturen sollte zweckmäßigerweise vier Stunden vor Gewinnung der Proben in der Harnblase bleiben.

Die Proben werden im Allgemeinen anhand von unter sauberen Bedingungen gelassenem (Mittelstrahl)-Urin gewonnen. Die zum Anlegen einer Kultur bestimmten Proben können auch durch Katheterisierung oder suprapubische Blasenpunktion gewonnen werden.

Die Probe muss sofort nach Gewinnung auf den Uricult Trio-Nährmediumträger gemipft werden. Den Nährmediumträger anschließend sofort in das schützende Röhrchen zurückschieben, und die Verschlusskappe fest verschließen.

Wenn die Hamprobe vor der Beimpfung gelagert werden muss, darf sie nicht länger als 24 Stunden bei 2...8°C im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Medikationen (besonders Antibiotika) können sich auf das Ergebnis des Uricult Trio -Tests auswirken. Deshalb darf der Test nicht vor Ablauf von 48 Stunden nach abgeschlossener Einnahme der Medikation durchgeführt werden.

Testverfahren

- Ohne Berühren der Agarschichten die Verschlusskappe mit dem daran befestigten Nährmediumträger abschrauben.
- Den an der Verschlusskappe befestigten Uricult Trio -Nährmediumträger in der frisch gelassenen Mittelstrahlurine eintauchen, bis die Agaroberflächen vollkommen bedeckt sind. Steht nicht genügend Harn zum Eintauchen zur Verfügung, können die Agarschichten als Alternative mit dem Harn übergossen werden. Zur Gewährleistung, dass die Agarschichten vollkommen angefeuchtet sind, den Objektträger nach dem Übergießen vorsichtig kippen.
- Überschüssigen Harn vom Nährmediumträger abfließen lassen.
- Die letzten Tropfen mit saugfähigem Papier (Filterpapier) abtupfen.
- Den an der Verschlusskappe befestigten Nährmediumträger in das Röhrchen zurückschieben, und die Verschlusskappe fest aufschrauben.
- Das Patientenetikett ausfüllen und an dem Röhrchen befestigen.
- Das Röhrchen 16–24 Stunden aufrecht stehend in einem Brutschrank bei 36 ± 2°C bebrüten. Als Alternative kann das Röhrchen auch zum Inkubieren an ein Laboratorium gesandt werden.
- Zur Ermittlung der Kolonienzahl (CFU/ml) den an der Verschlusskappe befestigten Nährmediumträger aus dem Röhrchen nehmen, und die Koloniedichte auf der dem Kit beiliegenden Standardbildkarte durch Vergleich ablesen.

Hinweise:

- Wir empfehlen, negative Kulturen und komplizierte oder Katheter-assoziierte UTI-Proben immer für weitere 24 Stunden zu inkubieren, um sicherzustellen, dass auch langsam wachsende Bakterien nachgewiesen werden.
- Der beimpfte Nährmediumträger kann sofort bebrütet, gelagert oder zur Bebrütung und Interpretation der Ergebnisse an ein Laboratorium gesandt werden. Lagerung und Transport dürfen 48 Stunden bei 7...25°C nicht überschreiten. Danach muss Uricult Trio 16–24 Stunden bei 36 ± 2°C bebrütet werden. Wurde der Nährmediumträger bis zu 48 Stunden gelagert oder transportiert, darf von einem solchen Nährmediumträger nur das Vorliegen von Wachstum und die Kolonienzahl aufgezeichnet werden. Die Farbreaktion kann unter Umständen nicht typisch sein.
- Der beimpfte Nährmediumträger kann 1–3 Tage bei Raumtemperatur bebrütet werden. Danach können positive Kulturen zur weiteren Untersuchung an ein bakteriologisches Speziallaboratorium gesandt werden⁵. Zum Nachweis langsam wachsender Bakterien empfiehlt sich die Bebrütung negativer Kulturen für weitere 24 Stunden⁶.

Uricult® Trio

Uso previsto

Uricult Trio es un laminocultivo para el diagnóstico de bacterias en orina.

Principios del procedimiento

El sistema de laminocultivos Uricult Trio consta de tres agares. Un lado de la placa de plástico está recubierto con medio CLED verde y el otro lado con medio MacConkey marrón rojizo y con medio para E. coli incolore. El medio CLED sirve para determinar el recuento bacteriano total. El medio MacConkey, permite detectar organismos gram-negativos. Este medio contiene sales biliares que impiden el crecimiento de organismos gram-positivos que no sean enterococos que proliferarian en colonias en forma de pequeños puntos. El medio selectivo para E. coli está especialmente indicado para detectar organismos gram-negativos productores de β-glucuronidasa que crecen en forma de colonias de varias tonalidades de gris. *Escherichia coli* es el más común de los organismos productores de β-glucuronidasa que se encuentran en las infecciones del tracto urinario. Las sales biliares que incorpora este medio evita el crecimiento de organismos gram-positivos. Algunas levaduras pueden crecer en el medio E. coli.

Reactivos

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Placas sumergibles	10
Etiquetas adhesivas	10
Instrucciones de uso	1

- Interpretar los resultados después una incubación de 16 a 48 horas.
***Staphylococcus aureus* ATCC 25923:** Crecimiento de colonias sur CLED solamente. Las colonias fermentan el lactose como l'indique leur couleur jaune et la tendance à jaunir le milieu CLED.
***Escherichia coli* ATCC 25922:** Crecimiento de colonias jaunes avec tendance à jaunir le milieu CLED et croissance de colonias roses-rouges sur le milieu MacConkey. Crecimiento de colonias brunes sur le milieu E. coli.
***Proteus mirabilis* ATCC 12453:** Crecimiento de colonias translúcidas avec une tendance à bleuir le milieu CLED, et croissance de colonias incolores sur le milieu MacConkey. Aucune croissance sur le milieu Entérocoques.

Interprétation des résultats

Après incubation de la lame inoculée, la présence de bactéries est mise en évidence par les colonies se trouvant sur la surface de la gélose. Comme une colonie est le résultat de la multiplication d'une seule bactérie, le nombre de colonies indique la concentration d'unité de formation de colonies (CFU/ml) dans l'échantillon urinaire.

Milieu CLED:

La numération des colonies doit être déterminée sur le milieu CLED, de couleur initiale verte, en comparant avec le tableau de référence. Il est important de comparer le nombre de colonies et non leur taille.

La faible concentration en électrolytes du milieu CLED empêche l'invasion des souches de *Proteus* spp. Le bleu de bromothymol et le lactose permettent la détection des bactéries qui fermentent le lactose. Les souches lactose-positif poussent en donnant des colonies jaunes et le milieu devient jaune, alors que les souches lactose-négatif poussent en donnant des colonies translucides qui ne changent pas la couleur du milieu.

Milieu MacConkey:

Le milieu sélectif de MacConkey initialement rouge-brunâtre permet la croissance des bactéries à gram-négatif, ainsi que celle des entérocoques qui poussent en donnant de petites colonies sur ce milieu⁷. La sélectivité est due à la présence des sels biliaires. Les bactéries lactose-positif sont rouges et les lactose-négatif sont translucides.

Milieu E. coli:

Les bactéries produisant de la β-glucuronidase se présentent sous forme de colonies dont la couleur varie du brun au gris^{8,9}. Les bactéries β-glucuronidase-négative, à gram-négatif sont translucides.

Quand le nombre de bactéries urinaires est élevé (≥ 10⁷ CFU/ml), la surface de la gélose peut être totalement recouverte par des colonies confluentes. Ceci peut être mal interprété et être considéré comme un résultat négatif. Par conséquent, n'importe quelle surface apparaissant négative doit être examinée sous lumière réfléchie. L'absence de réfléchissement indique une croissance confluyente.

On peut également détecter les petites colonies sous une forte lumière. Un mélange de colonies sur Uricult Trio est généralement dû à une contamination exogène de l'échantillon.

Limites de la procédure

Uricult Trio détecte des concentrations bactériennes comprises entre 10³ et 10⁷ CFU/ml. Le tableau de référence permet la détermination de la numération des colonies à la puissance la plus proche de 10. Quand le tableau de référence est utilisée selon des indications, la numération des colonies montre une corrélation de 99 % avec la méthode conventionnelle d'ensemencement en boîte de Pétri¹.

Valeurs attendues

Les valeurs suivantes sont basées sur les recommandations de l'ECLM-EUG (Guide Européen de l'analyse urinaire), version 2000.

Méthode de prélèvement, statut clinique	Numération significative de colonies (CFU/ml)
Milieu de jet, temps vésical < 4 heures	≥ 10 ³
patient symptomatique	≥ 10 ⁴⁻⁵
Milieu de jet, temps vésical > 4 heures	≥ 10 ³
Prélèvement par sondage chez l'homme	≥ 10 ⁴
Prélèvement par sondage chez la femme	≥ 10 ⁴
Bactériurie asymptomatique	≥ 10 ⁵
Prélèvement par ponction	Toute pousse de colonies

Remarque: Dans certains cas, l'urine ayant stagné dans la vessie moins de 4 heures peut donner lieu à des numérations de colonies significatives inférieures à 10³ CFU/ml.

Performances

Uricult • Milieu CLED

Arneil, G.C. 1970: Détection de la bactériurie à température ambiante. Lancet, 17 Janvier, pages 119–121⁶.

Nombre d'échantillons	140	Méthode de référence:
Sensibilité	100 %	Gélose Nutritionnelle
Spécificité	99 %	
VPP	98 %	
VPN	100 %	

Mise au rebut

- Mettre le contenu au rebut conformément aux lois nationales et locales.
- Tous les échantillons de patients et les composants utilisés doivent être manipulés et mis au rebut comme des matières potentiellement infectieuses.
- Matériaux des composants:
Papier : Instructions d'utilisation, étiquettes patient
Carton : Emballage du kit
Plastique: Tubes, bouchons de réactifs, lames
- S'ils sont utilisés selon les bonnes pratiques de laboratoire, avec une bonne hygiène du plan de travail et suivant le mode d'emploi, les réactifs ne représentent pas de danger pour la santé.

Gebrauchsanweisung • Deutsch

Qualitätskontrolle

Qualitätskontrolltests werden an jeder Uricult Trio -Eintauchnährmediumträger-Charge zum Zeitpunkt der Herstellung durchgeführt. Möchte der Benutzer seine eigene Qualitätskontrolle vornehmen, so empfiehlt sich das folgende Verfahren:

- Herstellung einer Suspension mit 10⁵–10⁶ Bakterien/ml der folgenden Bakterien jeweils in steriler Kochsalzlösung:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Mit diesen Suspensionen unter Verwendung des üblichen Verfahrens die Uricult Trio -Eintauchnährmediumträger beimpfen.
- Die Ergebnisse nach 16- bis 48-stündiger Bebrütung wie folgt beurteilen:
***S. aureus* ATCC 25923:** Kolonienwachstum nur auf dem CLED Nährmedium. Kolonien vergären Lactose, wie durch die gelbe Farbe der Kolonien angezeigt und tragen zur Gelbfärbung des Nährmediums bei.
***E. coli* ATCC 25922:** Wachstum in gelben Kolonien mit einer Gelbfärbung des CLED-Nährmediums und Wachstum als rosarote Kolonien auf dem MacConkey-Nährmedium. Wachstum brauner Kolonien auf dem Nährmedium für E. coli.
***P. mirabilis* ATCC 12453:** Wachstum durchsichtiger Kolonien auf dem CLED-Nährmedium, mit möglicher Blaufärbung des Nährmediums. Wachstum farbloser Kolonien auf dem MacConkey-Nährmedium. Wachstum farbloser Kolonien auf dem Nährmedium für E. coli.

Interpretation der Testergebnisse

Nach Bebrütung des beimpften Nährmediumträgers wird das Vorliegen von Bakterien durch das Kolonienwachstum auf der Agarschicht nachgewiesen. Da eine Kolonie aus der Vermehrung einer einzelnen Bakterienzelle entsteht, zeigt die Kolonienzahl die Konzentration der kolonienbildenden Einheiten (CFU; *Colony Forming Units*) in der Hamprobe an. Die Bestimmung der Kolonienzahl auf dem ursprünglich grünen CLED-Nährmedium erfolgt durch Vergleich der Koloniedichte mit der auf der mitgelieferten Standardbildkarte und durch Ermittlung, welche die größte Ähnlichkeit aufweist. Es ist zu beachten, dass der Vergleich der Ermittlung der Kolonienzahl und nicht der Koloniengröße dient.

Aufgrund der geringen Elektrolytkonzentration des CLED-Nährmediums wird das Überwuchern mit *Proteus*-Stämmen verhindert. Zum Nachweis von Lactose vergärenden Bakterien sind in dem Nährmedium Bromthymolblau und Lactose enthalten. Lactose-positive Stämme wachsen als gelbe Kolonien und färben das Nährmedium gelb, wohingegen Lactose-negative Stämme als durchsichtige Kolonien mit keiner Farbänderung des Nährmediums wachsen.

Das ursprünglich rotbraune MacConkey-Selektivmedium unterstützt das Wachstum Gram-negativer Bakterien, obwohl auf diesem Nährmedium auch Enterokokken als stecknadelkopfgroße Kolonien wachsen können⁷. Lactose-positive Bakterien wachsen auf dem Nährmedium als rote und Lactose-negative Bakterien als durchsichtige Kolonien. β-Glucuronidase bildende Keime wachsen auf dem farblosen Nährmedium für E. coli als Kolonien in verschiedenen Braun- oder Grauschattierungen^{8,9}. β-Glucuronidase negative, Gram-negative Bakterien wachsen auf diesem Nährmedium als durchsichtige Kolonien.

Wenn der Bakteriengehalt im Harn hoch ist (≥ 10⁷ CFU/ml), können die Agarschichten von dem ineinander fließenden Wachstum vollkommen bedeckt sein. Dies kann zur Interpretation eines falsch-negativen Ergebnisses führen. Deshalb müssen alle negativ erscheinenden Oberflächen unter einem Reflexionslicht untersucht werden. Abwesenheit von Reflexion zeigt ineinander fließendes Wachstum an. Ein helles Licht lässt auch den Nachweis sehr kleiner Kolonien zu.

Eine Mischung verschiedener Bakterienstämme auf dem Uricult Trio ist sehr wahrscheinlich auf die Verunreinigung der Hamprobe zurückzuführen.

Einschränkungen des Verfahrens

Uricult Trio ist zum Nachweis von Bakterienkonzentrationen zwischen 10³ und 10⁷ CFU/ml fähig. Die Standardbildkarte ermöglicht die Ermittlung der Kolonienzahl bis zur nächsten Potenz von 10 durch Vergleich. Wenn die Karte anweisungsgemäß verwendet wird, weisen die Kolonienzahlen mit dem herkömmlichen Gießplattenverfahren eine 99 %ige Korrelation auf ¹.

Erwartete Ergebnisse

Die folgenden Werte beruhen auf den europäischen Richtlinien für Urinalanalysen, ECLM-EUG European Urinalysis Guidelines (2000).

Verfahren zur Probengewinnung klinischer Status	Signifikante Kolonienzahl (CFU/ml)
Mittelstrahl, Zeit in der Harnblase	≥ 10 ³
< 4 Stunden, symptomatischer Patient	≥ 10 ⁴⁻⁵
Mittelstrahl, Zeit in der Harnblase > 4 Stunden	≥ 10 ³
Katheterprobe von einem männlichen Patienten	≥ 10 ⁴
Katheterprobe von einer Patientin	≥ 10 ⁴
Nicht symptomatische Bakteriurie	≥ 10 ⁵
Punktionsprobe	Jegliches Wachstum

Hinweis: In einigen Fällen kann < 4 Stunden in der Harnblase zurückgehaltener Harn klinisch signifikante Kolonienzählungen unter 10³ CFU/ml ergeben.

Leistungsparameter

Uricult • CLED-Nährmedium

Arneil, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, S. 119–121 ⁶ .		
Probenzahl	140	Referenzverfahren:
Empfindlichkeit	100 %	Gießplatte (Nähragar)
Spezifität	99 %	
Positiv prädiktiver Wert (PPW)	98 %	
Negativ prädiktiver Wert (NPW)	100 %	

Empfehlungen für die Abfallbeseitigung

- Entsorgen Sie alle Bestandteile entsprechend der nationalen und lokalen Vorschriften.
- Sämtliche Patientenproben und benutzte Komponenten sollten vorsichtshalber wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Material der Komponenten:
Papier: Gebrauchsinformation, Patientenaufkleber
Pappe: Kitbox
Plastik: Röhrchen, Verschlusskappe und Dipslide
- Bei bestimmungsgemäßer Verwendung entsprechend der „Good Laboratory Practice“, guter Arbeitshygiene und nach der Gebrauchsinformation sollten die Reagenzien keine gesundheitliche Gefährdung darstellen.

Obtención y preparación de las muestras

Lo ideal es que la orina destinada al cultivo bacteriano permanezca varias horas en la vejiga antes de recoger la muestra. Las muestras de orina se obtendrán por micción. Pueden ser obtenidas también mediante cateterización o aspiración suprapúbica.

La muestra se inoculará en la placa de Uricult Trio inmediatamente después de su recogida. A continuación, la placa se colocará en el tubo protector y la tapa se cerrará herméticamente.

Si la muestra de orina tuviera que guardarse antes de su utilización, se conservará refrigerada, entre 2 y 8°C, no más de 24 horas.

Espanol...

Los resultados del test Uricult Trio podrían verse afectados si el paciente está en tratamiento con antibióticos. Por lo tanto, la prueba no se realizará hasta pasadas 48 horas desde la última dosis de la medicación.

Procedimiento

- Desenroscar la placa del tubo sin tocar las superficies de agar.
- Sosteniendo Uricult Trio por la tapa, sumergir la placa en la orina fresca de forma que las superficies de agar queden totalmente cubiertas. Si el volumen de orina fuera insuficiente, humedecer las superficies vertiendo orina sobre ellas, haciendo oscilar la placa para asegurarse de que las superficies se humedecen por completo.
- Escurrir el exceso de orina de la placa.
- Secar las últimas gotas con papel absorbente.
- Colocar la placa en el tubo y enroscar fuertemente.
- Rellenar la etiqueta con los datos del paciente y pegarla al tubo.
- Colocar el tubo vertical en un incubador (36±2°C) durante 16–24 horas. El tubo también puede ser enviado a un laboratorio para su incubación.
- Para obtener un recuento de colonias (CFU/ml), sacar la placa del tubo y comparar la densidad de colonias con la tabla comparativa incluida en el kit.

Nota:

- Se recomienda que los cultivos negativos y las muestras de infecciones del tracto urinario complicadas o asociadas a catéteres se incuben siempre durante 24 horas adicionales para garantizar que se detecten las bacterias de crecimiento lento.
- La placa inoculada puede ser incubada inmediatamente o conservada y/o transportada a un laboratorio para su incubación e interpretación. La conservación o transporte no excederá de 48 horas, a 7...25°C, y transcurrido este tiempo, Uricult Trio deberá ser incubado a 36±2°C durante 16–24 horas. Si la placa ha sido conservada o transportada durante más de 48 horas, se registrará la presencia de colonias y su recuento; la reacción de color puede resultar atípica.
- La placa inoculada puede incubarse a temperatura ambiente durante 1–3 días, transcurridos los cuales, los cultivos positivos se enviarán a un laboratorio especializado para su posterior estudio². Los cultivos negativos pueden incubarse durante 24 horas más para detectar bacterias de crecimiento lento³.

Control de calidad

Durante la fabricación, se realizan controles de calidad en cada lote de Uricult Trio. En caso de que el usuario deseara realizar su propio control de calidad, se recomienda el siguiente procedimiento:

- Preparar una suspensión de 10⁵–10⁶ bacterias/ml de cada uno de los siguientes microorganismos en solución salina estéril:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Utilizar las suspensiones para inocular las placas de Uricult Trio utilizando el método normal.
- Interpretar los resultados al cabo de 16–48 horas de incubación del siguiente modo:

S. aureus ATCC 25923: Crecimiento de colonias únicamente en el medio CLED. Las colonias fermentan la lactosa como indica el color amarillo de las mismas y el cambio a dicho color del medio.

E. coli ATCC 25922: Crecimiento de colonias de color amarillo con un cambio de coloración al amarillo del medio CLED y crecimiento de colonias de color rosado-rojizo en el medio MacConkey. Crecimiento de colonias de color marrón en el medio para E. coli.

P. mirabilis ATCC 12453: Crecimiento de colonias transparentes con un posible cambio de coloración al azul del medio CLED. Crecimiento de colonias incoloras en el medio MacConkey. Crecimiento de colonias incoloras en el medio para E. coli.

Interpretación de los resultados

Tras la incubación de la placa inoculada, la presencia de bacterias queda de manifiesto por la aparición de colonias sobre la superficie del agar. Dado que una colonia es el resultado de la multiplicación de una única célula bacteriana, el número de colonias indica la concentración de unidades formadoras de colonias (CFUs/ml) en la muestra de orina. El recuento de colonias deberá determinarse mediante el medio CLED originalmente de color verde, comparando la densidad de las colonias con el modelo de la tabla de referencia más parecido. Es importante comparar el número de colonias y no su tamaño.

Uricult® TrioInstruções de utilização • Português

Indicação

Meio de cultura em laminocultivo para a detecção de bacteriúria.

Princípio do teste

O sistema de laminocultivo Uricult Trio é constituído por três meios de agar. Um lado da placa de plástico está coberta com meio esverdeado CLED e o outro lado com meio MacConkey avermelhado e um meio específico para E. coli. O meio CLED serve para determinar a contagem bacteriana total. O meio MacConkey se destina para detecção de organismos gram negativos. Este meio contém sais biliares que impedem o crescimento de organismos gram-positivos que não sejam enterococos que poderiam proliferar em colónias com a forma de pequenos pontos. O meio para E. coli se destina especialmente para detecção de gram negativos, organismos produtores de β-glucuronidase os quais crescem como colónias em vários tons de marrom ou cinza neste meio. A *Escherichia coli* é a espécie mais comum produtora de β-glucuronidase encontrada em infecção urinária. Os sais biliares que fazem parte do terceiro meio previnem o crescimento de organismos. No entanto, certas espécies de fungos podem crescer no meio E. coli.

Reagentes

Conteúdo do conjunto

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Placas submergíveis	10
Etiquetas adesivas	10
Instruções de utilização	1

Armazenamento

ConsERVE o Uricult Trio a 7...25°C protegido de correntes de ar, flutuações de temperatura e fontes de luz. Evite conservá-lo perto de equipamentos que geram calor. **Não deixe congelar.** A data de validade está assinalada na caixa.

Advertências e precauções

Uricult destina-se unicamente para **uso em diagnóstico in vitro**. Não utilizar este produto após o final do prazo de validade indicado na embalagem. Utilize vestuário protector e luvas descartáveis durante o manuseamento das amostras ou testes e lave bem as mãos após a utilização. Não utilize Uricult Trio se observar descoloração ou desidratação do agar, separação dos meios de cultura da placa de plástico ou evidência de crescimentos bacterianos ou fúngicos. Desde que qualquer crescimento de colónias em Uricult Trio pode ser efetivo ou potencialmente patogénico, não tocar com as mãos.

Recolha das amostras de urina e seu armazenamento

O ideal é que a urina destinada à cultura bacteriana permaneça quatro horas na bexiga antes do recolhimento da amostra. As amostras de urina deverão ser obtidas por micção (urina de jato médio), mediante cateterização ou aspiração suprapúbica.

A amostra deverá ser inoculada no laminocultivo Uricult Trio imediatamente após sua coleta. Em seguida, deve – se retornar o laminocultivo ao tubo plástico que o protege e fechar rosqueando bem a tampa. Caso a amostra de urina tenha que ser conservada antes da sua utilização, conserva-la refrigerada, entre 2...8°C, até 24 horas de sua obtenção. Os resultados do teste Uricult Trio poderão ser afetados se o doente estiver seguindo terapêutica com antibióticos. Portanto, não se deve realizar o teste até que decorram 48 horas desde a última dose de medicação.

Procedimento do teste

- Desenroscar o laminocultivo do tubo sem tocar nas superfícies de agar.
- Segurar o Uricult Trio pela tampa, submergir o laminocultivo na urina fresca de jato médio de forma que as superfícies de agar fiquem totalmente cobertas. Se o volume de urina for insuficiente, deve-se umedecer as superfícies vertendo urina sobre elas e fazendo oscilar a placa para assegurar-se de que as superfícies ficaram completamente humedecidas.
- Escorrer o excesso de urina do laminocultivo.
- Secar as últimas gotas com papel absorvente.
- Colocar o laminocultivo no tubo e enroscar com força.
- Preencha a etiqueta com os dados do paciente e fixe no tubo.
- Colocar o tubo no sentido vertical numa incubadora (36±2°C) durante 16–24 horas. O tubo também pode ser enviado a um laboratório para se proceder à incubação.
- Para obtenção da contagem de colónias (CFU/ml), retirar o laminocultivo do tubo e comparar a densidade de colónias com a tabela comparativa incluída na embalagem.

Nota:

- Recomenda-se que as culturas negativas e as amostras de infecções do tracto uritário complicadas ou associadas a cateteres sejam sempre incubadas por mais 24 horas para garantir que as bactérias de crescimento lento são detectadas.
- O laminocultivo inoculado pode ser incubado imediatamente ou conservado e/ou transportado a um laboratório para que se proceda à sua incubação e interpretação. A conservação ou transporte não deve exceder à 48 horas, a 7...25°C, e transcorrido este tempo, Uricult Trio deverá ser incubado a 36±2°C durante 16–24 horas. Caso o laminocultivo tenha sido armazenado ou transportado por um período superior a 48 horas, deve-se levar em consideração somente a presença de crescimento e contagem de colónias, pois a reação de cor pode ser atípica.
- O laminocultivo inoculado pode ser incubado à temperatura ambiente durante 1–3 dias, transcorridos os quais, as culturas positivas devem ser enviadas a um laboratório especializado para estudo² posterior. As culturas negativas podem ser incubadas por mais 24 horas para detecção de bactérias de crescimento lento³.

Uricult® TrioIstruzioni per l'uso • Italiano

Finalità d'uso

E' un dip-slide che rileva le batteriurie con metodo colturale per la diagnosi delle infezioni del tratto urinario.

Principi della procedura

Il sistema di dip-slide Uricult Trio si basa sull'utilizzo di tre tipi di terreno agar. Un lato del supporto di plastica è ricoperto di CLED medium di colore verde. L'altro lato è suddiviso in due parti contenenti rispettivamente un MacConkey medium di colore rosso mattone ed un E. coli medium incolore. Il CLED medium serve per determinare la conta totale dei batteri. Il MacConkey medium serve per determinare i batteri gram negativi. Questo terreno contiene sali bilari che prevengono la crescita dei batteri gram-positivi oltre che di enterococchi che possono crescere come piccole colonie. E. coli medium serve specialmente per la determinazione dei gram negativi produttori di β-glucuronidasi che crescono come colonie di varie gradazioni dal bruno al grigio. *Escherichia coli* è il microorganismo più comune produttore di β-glucuronidasi riscontrabile nelle infezioni del tratto urinario. I sali bilari contenuti nel terreno inibiscono la crescita dei gram positivi. Alcuni tipi di lieviti crescono tuttavia su questo tipo di terreno.

Reagenti

Contenuto

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Dip-slide	10
Etichette identificative	10
Istruzioni per l'uso	1

Conservazione

Conservare Uricult Trio a 7...25°C protetto da correnti, variazioni di temperatura e fonti di luce. Evitare lo stoccaggio vicino a apparecchi che possono generare calore. **Non congelare.** La data di scadenza è indicata sulla scatola.

Avvertenze e precauzioni

Uricult è un test per **uso diagnostico in vitro**. Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza indicata sulla confezione. Indossare indumenti protettivi e guanti monouso quando si maneggiano i campioni o i test e successivamente lavarsi le mani con cura. Non utilizzare Uricult in caso di scolorimento o disidratazione dell'agar, di distaccoamento del terreno di crescita dal supporto di plastica o se si osserva crescita di funghi e/o batteri prima dell'uso. Poiché tutte le colonie che crescono su Uricult sono potenzialmente patogene, non toccare mai le colonie.

Raccolta e preparazione dei campioni

Idealmente l'urina da utilizzare per le culture batteriche dovrebbe essere raccolta quattro ore dopo l'ultima minzione. I campioni di urina sono generalmente raccolti da minzione (mitto intermedio), ma possono essere ottenuti anche da caterizzazione o da puntura sovrapubica. Il campione dovrebbe essere inoculato nello slide Uricult Trio immediatamente dopo la raccolta. Lo slide deve essere riposto subito dopo nel suo provettonc protettivo riavvitando saldamente il tappo. Se il campione di urina non può essere processato immediatamente, deve essere conservato in frigorifero a 2...8°C per non più di 24 ore. I farmaci (soprattutto antibiotici) possono falsare i risultati del test Uricult Trio. Il test non dovrebbe essere eseguito prima di 48 ore dall'ultima dose di farmaco somministrata.

Procedura

- Svitare lo slide senza toccare la superficie dell'agar.
- Maneggiare Uricult Trio tenendolo per il tappo ed immergerlo nel campione di urina appena raccolta in modo che la superficie dell'agar sia completamente immersa. Se il volume di urina non fosse sufficiente per effettuare questa operazione, versare l'urina direttamente sull'agar facendo attenzione che tutta la superficie venga bagnata.
- Lasciar sgocciolare l'eccesso di urina dallo slide.
- Tamponeare le ultime gocce di urina su carta assorbente.
- Riavvitare lo slide nel suo contenitore.
- Compilare l'etichetta con i dati del paziente ed attaccarla al contenitore.
- Mettere il contenitore capovolto in un incubatore (36±2°C) per 16–24 ore. Il contenitore può anche essere inviato al laboratorio per l'incubazione.

La bassa concentrazione di elettroliti del medio CLED evita la diffusione di las cepas de *Proteus*. El azul de bromotimol y la lactosa en dicho medio permiten la detección de bacterias que fermentan en lactosa. Estas cepas lactosa-positivas crecen como colonias amarillas y hacen que el medio de cultivo se vuelva de este color, mientras que las cepas lactosa-negativas crecen como colonias transparentes y no producen ningún cambio de color del medio.

El medio MacConKey selectivo y originalmente de color marrón rojizo es adecuado para el crecimiento de bacterias gram-negativas, pero en él también pueden crecer algunos enterococos como colonias en forma de puntos². En este medio, las bacterias lactosa-positivas se multiplican como colonias de color rojo y las lactosa-negativas como colonias transparentes. Los organismos productores de β-glucuronidasa crecen en forma de colonias de varias tonalidades de marrón o gris en el medio incolore de E. coli. Los organismos β-glucuronidasa negativos, gram-negativos crecen como colonias translúcidas en este medio. Cuando el contenido bacteriano en la orina es alto (≥ 10³ CFU/ml), las superficies de agar pueden quedar totalmente cubiertas por crecimientos superpuestos. Ello podría malinterpretarse como un resultado negativo. Por lo tanto, toda superficie que parezca negativa debe examinarse bajo una luz reflectante. La ausencia de reflexión indica crecimientos superpuestos. Una luz brillante también permite la detección de colonias muy pequeñas.

Una mezcla de diferentes cepas bacterianas en Uricult Trio es debida probablemente a la contaminación de la muestra de orina.

Limitaciones del procedimiento

Uricult Trio es capaz de detectar concentraciones bacterianas entre 10³ y 10⁷ CFU/ml. La tabla de referencia comparativa permite la determinación de recuentos de colonias a la potencia más próxima de 10. Cuando el modelo se utiliza conforme a las instrucciones, los recuentos de colonias presentan una correlación del 99 % con el método convencional de placa de cultivo¹.

Valores esperados

Los siguientes valores están basados en el documento definitivo de la Directiva Europea sobre Urianálisis (2000).

Método de recogida de la muestra, estado clínico	Recuento significativo de colonias (CFU/ml)
Chorro medio, permanencia en la vejiga < 4 horas, paciente sintomático	≥ 10 ³
Chorro medio, permanencia en la vejiga > 4 horas	≥ 10 ⁴⁻⁵
Muestra de hombre obtenida con catéter	≥ 10 ³
Muestra de mujer obtenida con catéter	≥ 10 ⁴
Bacteriuria no sintomática	≥ 10 ⁵
Muestra mediante punción	cualquier crecimiento

Nota: En algunos casos la orina que ha permanecido en la vejiga < 4 horas puede dar recuentos de colonias con significación clínica inferiores a 10³ CFU/ml.

Características de rendimiento

Uricult • Medio CLED

Arnell, G.C. 1970: Detección de bacteriuria a temperatura ambiente. Lancet, Enero 17, págs.119–121 ⁶ .		
Número de muestras	140	Método de referencia: placa de cultivo (agar nutritivo)
Sensibilidad	100 %	
Especificidad	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Eliminación

- Elimine el contenido acorde a la legislación local y nacional.
- Todas las muestras de paciente y components usados deberían sen manipulados y eliminados como material potencialmente infeccioso.
- Materiales de los components:

Papel: Instrucciones de uso, etiquetas de paciente

Cartón: Caja del kit

Plástico: Tubos, tapones y laminocultivos
- Una vez usado, acorde con la normativa de Buenas Prácticas de Laboratorio, la buena higiene ocupacional y las instrucciones de uso, los reactivos suministrados no deberían representar un peligro para la salud.

Controlo de qualidade

Durante a fabricação, realizam-se controles de qualidade em cada lote de laminocultivos Uricult Trio. Na eventualidade do manipulador desejar realizar o seu próprio controle de qualidade, recomenda-se o seguinte procedimento:

- Preparar uma suspensão de 10⁵–10⁶ bactérias/ml de cada um dos seguintes microorganismos em solução salina estéril:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Utilizar as suspensões para inocular o laminocultivo Uricult Trio utilizando o método normal.
- Interpretar os resultados ao fim de 16–48 horas de incubação do seguinte modo:

S. aureus ATCC 25923: Crescimento de colónias unicamente no meio CLED. As colónias fermentam com a lactose como indica a cor amarela das mesmas e a alteração da cor do meio.

E. coli ATCC 25922: Crescimento de colónias com uma alteração de coloração para amarelo do meio CLED e crescimento de colónias de cor rosada-avermelhada no meio MacConkey.

P. mirabilis ATCC 12453: Crescimento de colónias transparentes com uma alteração de coloração para azul do meio CLED e proliferação de colónias incolores no meio MacConkey.

Interpretação dos resultados

Após a incubação do laminocultivo inoculado, a presença de bactérias é detectada pelo surgimento de colónias sobre a superfície de agar. Como uma colónia é o resultado da multiplicação de uma única célula bacteriana, o número de colónias indica a concentração de unidades que formam colónias (CFUs/ml) na amostra de urina. A contagem de colónias deverá ser determinada no meio CLED originalmente de cor verde, comparando a densidade das colónias com o modelo de comparação mais semelhante. É importante comparar o número de colónias e não a sua dimensão. A baixa concentração de eletrólitos do meio CLED evita a difusão das espécies de *Proteus*. O azul de bromotimol e a lactose no referido meio, permitem a detecção de bactérias que fermentam a lactose. Estas espécies positivas em lactose crescem como colónias amarelas e fazem com que o meio de cultura adquira esta cor, enquanto que as espécies negativas em lactose crescem como colónias transparentes e não produzem nenhuma alteração de cor no meio. O meio MacConkey selectivo e originalmente de cor avermelhada é adequado para o crescimento de bactérias gram-negativas, mas neste meio também podem crescer enterococos como colónias em forma de pontos². Os sais biliares tornam possível a seletividade. Neste meio, as bactérias positivas em lactose multiplicam-se como colónias de cor vermelha e as negativas como colónias transparentes. Quando o conteúdo bacteriano na urina é alto (≥ 10³ CFU/ml), as superfícies de agar podem ficar totalmente cobertas por crescimentos sobrepostos. Poderia ser mal interpretado como um resultado negativo. Portanto, toda a superfície que pareça negativa deve ser examinada sob uma luz refletora. A ausência de reflexo indica crescimentos sobrepostos. Uma luz brilhante também permite a detecção de colónias muito pequenas. Uma mistura de diferentes espécies bacterianas em Uricult refere-se provavelmente a uma contaminação da amostra de urina.

Limitações do procedimento

Uricult é capaz de detectar concentrações bacterianas entre 10³ e 10⁷ CFU/ml. O modelo comparativo permite a detecção de contagens de colónias à potencia mais próxima 10. Quando o modelo é utilizado conforme as instruções, as contagens de colónias apresentam uma correlação de 99 % com o método convencional de placa de cultura¹.

Valores teóricos

Os seguintes valores baseiam-se na redação definitiva da Directiva Europeia sobre Urianálise (2000).

Método de recolha da amostra, estado clínico	Contagem significativa de colónias (CFU/ml)
Jacto médio, permanência na bexiga < 4 horas, doente sintomático	≥ 10 ³
Jacto médio, permanência na bexiga > 4 horas	≥ 10 ⁴⁻⁵
Amostra de homem obtida com catéter	≥ 10 ³
Amostra de mulher obtida com catéter	≥ 10 ⁴
Bacteriúria não sintomática	≥ 10 ⁵
Amostra mediante punção	qualquer crescimento

Nota: Em alguns casos a urina que permaneceu na bexiga < 4 horas pode dar contagens de colónias inferiores a 10³ CFU/ml.

Características de desempenho do Teste

Uricult • Meio CLED

Arnell GC. 1970: Detecção de bacteriúria à temperatura ambiente. Lancet, Janeiro 17, págs.119–121 ⁶ .		
Número de amostras	140	Método de referência: placa de cultura (nutriente agar)
Sensibilidade	100 %	
Especificidade	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Eliminação

- Elimine o conteúdo de acordo com a legislação nacional e local.
- Todas as amostras de doentes e componentes utilizados devem ser manuseados e eliminados como material potencialmente infeccioso.
- Materiais dos componentes:

Papel: Instruções de utilização, identificações dos doentes

Cartão: Caixa do kit

Plástico: Tubos, tampas e lâminas para imersão
- Quando utilizados em conformidade com as boas práticas de laboratório, boas práticas de higiene profissional e instruções de utilização, os reagentes fornecidos não devem constituir um risco para a saúde.

- Per eseguire la conta delle colonie (CFU/ml), rimuovere lo slide dal contenitore e comparare la densità delle colonie con la tavola di riferimento fornita nel kit.

Nota:

- Per colture negative e complesse o associate a cateteri per campioni UTI è raccomandabile incubare sempre per ulteriori 24 ore per assicurare il rilevamento di batteri a crescita lenta.
- Gli slide inoculati possono essere messi ad incubare immediatamente oppure possono essere conservati o inviati al laboratorio per l'incubazione e l'interpretazione. La conservazione o il trasporto non dovrebbero superare le 48 ore a 7...25°C, dopo di che Uricult Trio dovrebbe essere incubato a 36±2°C per 16–24 ore. Se gli slide sono stati conservati o trasportati per più di 48 ore, sarebbe opportuno registrare solo la presenza di crescita batterica o la conta di colonie; variazioni di colore possono essere reazioni atipiche.
- Gli slide inoculati possono essere incubati a temperatura ambiente per 1–3 giorni, dopo di che le colture risultate positive possono essere inviate a laboratori specializzati per ulteriori indagini². Le colture negative possono essere incubate per ulteriori 24 ore per rilevare la crescita di eventuali batteri a crescita lenta³.

Controllo di qualità

I test per il controllo di qualità vengono effettuati su ciascun lotto di dip slide Uricult Trio al momento della produzione. Anche gli utilizzatori dovrebbero eseguire un loro test per il controllo qualità, si raccomanda di seguire la seguente procedura:

- Preparare una sospensione batterica in soluzione salina sterile di 10⁵–10⁶ batteri/ml per ciascuno dei seguenti batteri:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Utilizzare la sospensione per inoculare il dip slide Uricult Trio seguendo la normale procedura.
- Dopo 16–48 ore di incubazione, interpretare i risultati come segue:

S. aureus ATCC 25923: Crescita di colonie solo su CLED medium. Colonie lattosio fermentanti, come indicato dal colore giallo delle colonie e dal viraggio al giallo del terreno.

E. coli ATCC 25922: Crescita di colonie gialle con viraggio al giallo del CLED medium e crescita di colonie rosa-rosse su MacConkey medium. Crescita di colonie brune su E. coli medium.

P. mirabilis ATCC 12453: Crescita di colonie traslucide con una possibile colorazione blu del CLED medium. Crescita di colonie prive di colore su MacConkey medium. Crescita di colonie incolori su E. coli medium.

Interpretazione dei risultati

Dopo l'incubazione degli slide inoculati, la presenza di batteri è evidenziata dalla crescita di colonie sulla superficie dell'agar. Poiché una colonia è il risultato della moltiplicazione di una singola cellula batterica, il numero di colonie indica la concentrazione delle unità formanti colonie (CFUs/ml) nel campione di urina. La conta delle colonie deve essere effettuata su CLED medium di colore verde, facendo il confronto con la tavola di riferimento. E' importante comparare il numero di colonie e non la loro dimensione.

La bassa concentrazione di elettroliti del CLED medium, previene la crescita di colonie di *Proteus*. Il blu di bromotimolo e il lattosio presenti nel terreno consentono il rilevamento di batteri lattosio fermentanti. I ceppi lattosio-positivi crescono come colonie gialle che fanno virare il colore del terreno, mentre i ceppi lattosio-negativi crescono come colonie traslucide senza viraggio di colore del terreno.

Il MacConkey medium, originariamente di colore mattone, è selettivo per la crescita di batteri gram-negativi, ma possono crescere anche enterococchi con colonie di tipo "punta a spillo"². I batteri lattosio-positivi crescono come colonie rosse e i batteri lattosio-negativi come colonie traslucide. I batteri β-glucuronidasi positivi crescono come colonie di varie gradazioni di bruno o grigio su E. coli medium incolore. I batteri gram negativi β-glucuronidasi negativi crescono come colonie traslucide su questo terreno. Quando la carica batterica dell'urina è molto alta (≥ 10⁷ CFU/ml), la superficie dell'agar può apparire completamente coperta da una crescita confluyente. Questo potrebbe essere erroneamente interpretato come un risultato negativo. Quindi, ogni terreno che appaia negativo per la crescita

Italiano...

batterica dovrebbe essere esaminato sotto una luce riflessa; l'assenza di riflessione indica crescita confluyente. Una luce chiara consente di individuare anche colonie molto piccole. La crescita contemporanea sull'Uricult Trio di diversi ceppi batterici, è molto spesso dovuta alla contaminazione del campione di urina.

Limitazioni della procedura

Uricult Trio è in grado di rilevare concentrazioni batteriche da 10³ a 10⁷ CFU/ml. La tavola di riferimento consente di effettuare la conta di colonie con carica prossima a 10. Quando la tavola di riferimento viene utilizzata seguendo le istruzioni, la conta delle colonie mostra una correlazione del 99 % con il metodo convenzionale su piastra.

Valori attesi

I seguenti valori sono basati sulle linee guida europee 2000 dell' ECLM-EUG per le analisi delle urine.

Metodo di campionamento, stato clinico	Carica microbica significativa (CFU/ml)
Mitto intermedio, tempo in vescica < di 4 ore, paziente sintomatico	≥ 10 ³
Mitto intermedio, tempo in vescica > di 4 ore	≥ 10 ^{4,5}
Campioni da uomini caterizzati	≥ 10 ³
Campioni da donne caterizzate	≥ 10 ⁴
Batteriurie asintomatiche	≥ 10 ⁵
Campioni da puntura sovrapubica	tutti i valori

Uricult® Trio

Ενδεικτική Χρήση

Θρεπτικό υλικό σε μορφή dip slide για ανίχνευση βακτηριουρίας.

Αρχή της μεθόδου

Το σύστημα Uricult Trio dip slide βασίζεται σε τρία θρεπτικά υλικά. Η μια πλευρά του πλαστικού slide είναι καλυμμένη με πράσινο υλικό Cled και η άλλη πλευρά με καστανοκόκκινο υλικό MacConkey και άχρωμο εκλεκτικό υλικό E. Coli.

Το υλικό Cled ενδεκνυται για ανίχνευση του συνολικού βακτηριακού φορτίου. Το υλικό MacConkey ενδεκνυται για την ανίχνευση των gram-αρνητικών οργανισμών. Αυτό το υλικό περιέχει χολικά άλατα τα οποία εμποδίζουν την ανάπτυξη των gram θετικών οργανισμών εκτός των εντεροκόκκων, οι οποίοι μπορούν να αναπτυχθούν και να σχηματίσουν στικτές αποικίες. Το εκλεκτικό υλικό E. Coli ενδεκνυται ειδικά για την ανίχνευση των gram-αρνητικών, μικροοργανισμών, οι οποίοι αναπτύσσονται δίνοντας καφέ ή γκρι αποικίες, διαφόρων σχημάτων. Η *Escherichia coli* είναι ο πιο κοινός β-γλουκορονιδάση παράγων οργανισμός ο οποίος απομονώνεται από την ουροφόρο οδό. Τα χολικά άλατα που περιέχονται στο υλικό E. Coli εμποδίζουν την ανάπτυξη πάνω σε αυτό των gram-θετικών οργανισμών. Εντούτοις, ορισμένοι μύκητες αναπτύσσονται πάνω στο υλικό E. Coli.

αντιδραστήρια

Περιεχόμενα

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Dip slides	10
ετικέττες ασθενών	10
Οδηγίες χρήσης	1

Αποθήκευση

Φυλάσσετε το Uricult Trio στους 7...25°C προστατευμένο από έντονες δραστικές θερμοκρασίες και πηγές φωτός. Αποφύγετε την αποθήκευση κοντά σε συσκευές που παράγουν θερμότητα. **Μην το αφήντε να παγώσει**. Η ημερομηνία λήξης είναι σημειωμένη στη συσκευασία.

Προειδοποιήσεις – Προφυλάξεις

Το Uricult Trio είναι για **ΧΡΗΣΗ IN VITRO** και μόνο.

Μην χρησιμοποιείτε το προϊόν μετά την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης. Φοράτε προστατευτικά ρούχα και γάντια μιας χρήσεως όταν χειρίζεστε δείγματα ή εξετάσεις και πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας στο τέλος .

Μην χρησιμοποιείτε το Uricult Trio εάν παρατηρήσετε αποχρωματισμό ή αφυδάτωση των υλικών, αποχρωμαισμό των υλικών από το πλαστικό slide ή οποιαδήποτε ένδειξη βακτηριακής ή μυκητιασικής ανάπτυξης.

Όλες οι αποικίες που αναπτύσσονται στο Uricult Trio είναι ενεργά ή πιθανά παθογόνα μικρόβια. Για το λόγο αυτό μην αγγίζετε την ανάπτυξη (αποικίες).

Δειγματοληψεία ούρων και αποθήκευση των δειγμάτων

Ιδανικά, τα ούρα για την καλλιέργεια θα έπρεπε να έχουν παραμείνει για 4 ώρες στην ουροδόχο κύστη, πριν από τη λήψη. Τα ούρα λαμβάνονται με κένωση της κύστης (καθάρω – μέσο ρεύμα ούρησης), καθετηριασμό ή υπερηβική παρακέντηση.

Το δείγμα πρέπει να εμβολιάζεται πάνω στο Uricult Trio slide αμέσως μετά την λήψη. Το slide πρέπει αμέσως να επανατοποθετείται στο προστατευτικό του σωληνέριο και να κλείνεται πολύ καλά.

Εάν υπάρχει ανάγκη αποθήκευσης του δείγματος ούρων πριν τον εμβολιασμό αυτό θα πρέπει να φυλαχθεί στην ψύξη, στους 2...8°C και όχι περισσότερο από 24 ώρες.

Λήψη φαρμάκων (κυρίως αντιβιοτικών) μπορεί να έχουν επίδραση στα αποτελέσματα της καλιέργειας με το test Uricult Trio. Η εξέταση δεν θα πρέπει να πραγματοποιείται εάν δεν περάσουν 48 ώρες από την λήψη της τελευταίας δόσης του φαρμάκου.

Μέθοδος

- Ξεβιδώνουμε το slide από το σωληνάριο χωρίς να αγγίζουμε τις επιφάνειες των υλικών.
- Κρατώντας το Uricult Trio από το καπάκι, βυθίζουμε το slide μέσα στα πρόσφατα συλλεγμένα ούρα έτσι ώστε οι επιφάνειες των υλικών να εμβάπτισθούν ολόκληρες. Εάν η ποσότητα των ούρων δεν είναι αρκετή γι' αυτό, οι επιφάνειες των υλικών μπορούν να εμβολιασθούν με τα ούρα ριχνοντας σταγονές ούρων πάνω τους και κινώντας το slide έτσι ώστε να βραχούν τελείως με τα ούρα.
- Αφήνουμε την περίσσια των ούρων να στραγγίξει.
- Στραγγίζουμε και τις τελευταίες σταγονές των ούρων πάνω σε ένα απορροφητικό χαρτί.
- Ξαναβιδώνουμε πολύ καλά το slide στο σωληνάριο.
- Γράφουμε μια ετικέττα με τα στοιχεία του ασθενούς και την επκολλάμε στο σωληνάριο.
- Τοποθετούμε το σωληνάριο σε όρθια στάση μέσα σε ένα επωαστικό κλίβανο (36±2°C) για 16–24 ώρες. Το σωληνάριο μπορεί επίσης να σταλεί σε εργαστήριο για επώαση.
- Για να καταμετρήσουμε τις αποικίες (CFU/ml), ξεβιδώνουμε το slide από το σωληνάριο και συγκρίνουμε την πυκνότητα των ανεπτυγμένων αποικιών με τα μοντέλα του πίνακα που συνοδεύει το kit.

Σημείωση:

- Οι αρνητικές καλλιέργειες και τα επιπλεγμένα δείγματα ή τα δείγματα με ουρολοιμώξεις σχετιζόμενες με καθεήτρα συνιστούν να επωάζονται πάντα για 24 ώρες επιπλέον ,ώστε να εξασφαλιστεί η ανίχνευση βραδέως αναπτυσσόμενων βακτηριδίων.
- Το εμβολιασμένο slide μπορεί να επωασθεί αμέσως ή να αποθηκευθεί ή να μεταφερθεί σε εργαστήριο για επώαση και αξιολόγηση. Η αποθήκευση ή η μεταφορά δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 48 ώρες σε θερμοκρασία 7...25°C, μετά από την οποία το Uricult Trio μπορεί να επωασθεί στους 36±2°C για 16–24 ώρες. Εάν το Uricult Trio έχει αποθηκευθεί ή μεταφερθεί για 48 ώρες, μόνο η παρουσία ανάπτυξης και ο ημιποσοτικός προσδιορισμός αξιολογείται. η παραγωγή χρώματος μπορεί να είναι ατυπική.
- Το εμβολιασμένο slide μπορεί να επωασθεί σε θερμοκρασία δωματίου από 1–3 ημέρες, μετά από την οποία θετικές καλλιέργειες αποστέλλονται σε ειδικευμένο εργαστήριο για περαιτέρω διερεύνηση⁶. Αρνητικές καλλιέργειες μπορούν να επωασθούν για 24 ώρες ακόμα, για την ανίχνευση των αργά αναπτυσσόμενων βακτηρίων⁶.

Nota: In alcuni casi l'urina rimasta in vescica meno di 4 ore può dare conte di colonie al di sotto di 10³ CFU/ml.

Caratteristiche delle prestazioni

Uricult • Terreno CLED

Arneil G.C., 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, Gennaio 17, pag. 119–121 ⁶ .		
Numero di campioni	140	Metodo di riferimento:
Sensibilità	100 %	Piastra (agar nutriente)
Specificità	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Smaltimento

- Smaltire il contenuto nel rispetto delle leggi locali e nazionali.
- Tutti i campioni dei pazienti ed i componenti usati devono essere manipolati e smaltiti come materiali potenzialmente infetti.
- Materiali dei componenti:
 - Carta: istruzioni per l'uso, etichette paziente
 - Cartone: scatola del kit
 - Plastica: tubi, coperchi e lamine
- I reagenti forniti, se utilizzati conformemente alle norme della buona pratica di laboratorio, nonché nel rispetto delle norme igieniche e delle istruzioni per l'uso, non dovrebbero presentare rischi per la salute.

Ποιοτικός έλεγχος

Ποιοτικός έλεγχος επιτελείται σε κάθε παρτίδα παραγωγής των Uricult Trio dip slides κατά την παρασκευή τους. Εάν ο χρήστης επιθυμεί να επιτελέσει το δικό του ποιοτικό έλεγχο, η ακόλουθη διαδικασία προτείνεται:

- Ετοιμάστε ένα εναιώρημα 10⁵–10⁶ βακτηρίων/ml από το καθένα από τα ακόλουθα βακτήρια, σε αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Χρησιμοποιείτε τα εναιωρήματα για να εμβολιάσετε τα Uricult Trio dip slides, χρησιμοποιώντας την κανονική μέθοδο.
- Αξιολογήστε τα αποτελέσματα, μετά από 16–48 ώρες ως ακολούθως:

S. aureus ATCC 25923: Ανάπτυξη αποικιών μόνο στο υλικό Cled. Οι αποικίες ζυμώνουν την λακτόζη, όπως αποδυνκνύεται από το κίτρινο χρώμα των αποικιών, καθώς και από την αλλαγή του χρώματος του υλικού σε κίτρινο.

E. Coli ATCC 25922: Ανάπτυξη κίτρινων αποικιών με αλλαγή χρώματος σε κίτρινο του υλικού Cled και ανάπτυξη ροζ-κόκκινων αποικιών στο υλικό MacConkey. Ανάπτυξη καφέ αποικιών στο υλικό E. Coli.

P. mirabilis ATCC 12453: Ανάπτυξη ημιδιαφανών αποικιών με πιθανή αλλαγή του χρώματος σε ιτλε του υλικού Cled και ανάπτυξη άχρωμων αποικιών στο υλικό MacConkey. Ανάπτυξη άχρωμων αποικιών στο υλικό E. Coli.

Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

Μετά την επώαση του εμβολιασμένου slide, η παρουσία βακτηριδίων αποδεικνύεται με τις αποικίες τους πάνω στην επιφάνεια των θρεπτικών υλικών. Λόγω του ότι μία αποικία είναι αποτέλεσμα του πολλαπλασιασμού ενός και μόνο βακτηριακού κυττάρου, ο αριθμός των αποικιών δηλώνει την συγκέντρωση των βακτηρίων, colony-forming units (CFUs) στα ούρα. Η καταμέτρηση των αποικιών πρέπει να γίνεται από το αρχικά πράσινο Cled υλικό, ταυριζόντως το με το μοντέλο του πίνακα που μοιάζει περισσότερο. Είναι σημαντικό να συγκρίνουμε τον αριθμό των αποικιών και όχι το μέγεθός τους.

Το αρχικά πράσινο υλικό Cled χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του αριθμού των αποικιών. Η χαμηλή συγκέντρωση ηλεκτρολυτών στο υλικό Cled εμποδίζει την εξάπλωση των στελεχών του *Proteus*. Το Bromthymol Blue και η Lactose στο υλικό επιτρέπουν την ανίχνευση του βακτηρίου που ζυμώνουν την λακτόζη. Τα λακτόζη θετικά στελέχη δίνουν κίτρινες αποικίες και αλλαγών το χρώμα του υλικού προς το κίτρινο, ενώ τα λακτόζη αρνητικά δίνουν ημιδιαφανείς αποικίες χωρίς αλλαγή του χρώματος του υλικού. Το αρχικά καστανοκόκκινο εκλεκτικό υλικό MacConkey υποστηρίζει την ανάπτυξη των Gram αρνητικών βακτηρίων, αλλά και οι εντερόκοκκοι μπορούν να δώσουν καλά διακριτές αποικίες πάνω στο υλικό⁷. Τα λακτόζη θετικά βακτήρια δίνουν κόκκινες ενώ τα λακτόζη αρνητικά ημιδιαφανείς αποικίες πάνω στο υλικό.

Οι β-γλουκορονιδάση παράγοντες μικροοργανισμοί αναπτύσσονται πάνω στο άχρωμο υλικό υλικό E. Coli δίνοντας καφέ ή γκρι αποικίες διαφόρων σχημάτων^{4,5}. Οι β-γλουκορονιδάση μη παράγοντες οργανισμοί, τα gram-αρνηκά βακτήρια αναπτύσσονται δίνοντας ημιδιαφανείς σ' αυτό το υλικό. Όταν η περιεκτικότητα των ούρων σε βακτήρια είναι υψηλή (≥ 10⁷ CFU/ml), η επιφάνειες των υλικών καλύπτονται τελείως από συρρέουσες αποικίες. Αυτό μπορεί να αξιολογηθεί λαθεμένα ως αρνητικό αποτέλεσμα. Γι' αυτό, όλες οι επιφάνειες που δείχνουν αρνητικές θα πρέπει να εξετάζονται κάτω από ανακλινόμενο φως, απουσία ανάκλασης σημαίνει συρρέουσα ανάπτυξη.

Μικτή ανάπτυξη από διάφορα στελέχη μικροβίων πάνω στο Uricult Trio, συνήθως οφείλεται στις επιμολύνσεις κατά τη διάρκεια λήψης του δείγματος.

Περιορισμοί της μεθόδου

Το Uricult Trio μπορεί να ανιχνεύσει συγκεντρώσεις βακτηρίων μεταξύ 10³ και 10⁷ CFU/ml. Ο πίνακας μοντέλων επιτρέπει την καταμέτρηση αποικιών με ακρίβεια την κοντινότερη δύναμη του 10. Όταν ο πίνακας χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες, δίνει μετρήσεις που συμφωνούν κατά 99% με την παραδοσιακή μέθοδο σε τρυβλίο¹.

Αναμενόμενες Τιμές

Οι ακόλουθες τιμές είναι βασισμένες στη τελική απεικόνιση του ECLM-EUG European Urinalysis Guidelines (2000).

Μέθοδος δειγματοληψείας, κλινική κατάσταση	Καταμέτρηση αποικιών (CFU/ml)
Μέσο ρεύμα ούρησης, χρόνος παραμονής στην κύστη < 4 ώρες, συμπτωματικός ασθενής	≥ 10 ³
Μέσο ρεύμα ούρησης, χρόνος παραμονής στην κύστη > 4 ώρες	≥ 10 ⁴⁻⁵
Δείγμα από καθετηριασμό άνδρα	≥ 10 ³
Δείγμα από καθετηριασμό γυναίκας	≥ 10 ⁴
Μη συμπτωματική βακτηριουρία	≥ 10 ⁵
Δείγμα παρακέντησης	Οποιαδήποτε ανάπτυξη

Σημείωση: Σε μερικές περιπτώσεις δείγμα ούρων με χρόνο παραμονής στην κύστη < 4 ώρες μπορεί να αποφέρει καταμέτρηση αποικιών κάτω από 10³ CFU/ml.

Συγκριτικά αποτελέσματα

Uricult • Υλικό CLED

Arneil, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Αριθμός Δειγμάτων	140	Μέθοδος αναφοράς:
Ευαισθησία	100 %	Κλασικό τρυβλίο
Ειδικότητα	99 %	(Θρεπτικό Αγαρ)
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Απορρίψη

- Απορρίψτε όλα τα περιεχόμενα σύμφωνα με τους εθνικούς και τοπικούς νόμους.
- Όλα τα δείγματα ασθενών και τα χρησιμοποιημένα περιεχόμενα πρέπει να χειρίζονται και να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά υλικά.
- Υλικά των περιεχομένων συσκευασίας:
 - Χαρτί: Οδηγίες Χρήσης, ετικέτες ασθενών
 - Χαρτόνι: κουτί συσκευασίας
 - Πλαστικό: Σωληνάρια, πιάματα και αναλώσιμα εμβάπτισης.
- Όταν χρησιμοποιούνται σύμφωνα με την Ορθή Εργαστηριακή Πρακτική, την καλή εργασιακή υγιεινή και τις οδηγίες χρήσης, τα παρεχόμενα αντιδραστήρια δεν πρέπει να αποτελούν κίνδυνο για την υγεία.

Uricult® Trio

Zamýšlené použití

Dip-slide kultivační metoda určená k diagnostice infekcí močových cest demonstrací mikroorganismů v moči.

Princip testu

Uricult Trio dip-slide systém je založen na třech agarových médiích. Jedna strana plastického destičky je potažena zeleným CLED médiem, druhá strana červenohnědým MacConkey médiem a bezbarvým E. coli médiem. CLED médium je určeno k detekci celkového počtu bakterií, MacConkey médium k detekci gramnegativních mikroorganizmů. MacConkey médium obsahuje žlučové soli, které zabraňují růstu grampozitivních bakterií, s výjimkou enterokoků, které mohou růst jako nepatrné kolonie. E. coli médium je určeno k detekci gramnegativních, β-glukuronidázu produkujících mikroorganizmů, které na tomto médiu rostou jako ružné hnědé nebo šedé kolonie. *Escherichia coli* je mikroorganizmus produkující β-glukuronidázu, který se nejčastěji vyskytuje v močovém traktu. Žlučové kyseliny obsažené v něm zabraňují růstu grampozitivních bakterií, i když některé druhy kvasinek na médiu rostou.

Reagencie

Obsah

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Dip-slide testů	10
Štítků	10
Návod k použití	1

Skladování

Uricult Trio uchovávejte při teplotě 7...25°C a chraňte ho před průvanem, výkyvy teplot a světlem. Zabraňte skladování v blízkosti zařízení generujících teplo. **Nesmí zmrznout**. Datum expirace je vyznačeno na bale-ni.

Upozornění a varování

Uricult Trio je určen pouze pro **použití in vitro**.

Výrobek nepoužívejte po expirační době vyznačené na krabičce. Při manipulaci se vzorky nebo s testy použijte ochranný oděv a jednorázové ochranné rukavice, po práci si důkladně umyjte ruce.

Nepoužívejte Uricult Trio, jestliže zjistíte dehydrataci agaru nebo změnu jeho barvy, separaci živného média od plastické destičky nebo růst bakterií nebo plísni a kvasinek.

Protože jakékoli kolonie rostoucí na Uricultu Trio jsou přímo nebo potenciálně patogenní, nedotýkejte se jich.

Odběr a příprava vzorků

V ideálním případě by měla být moč před odebráním vzorku v močovém měchýři po dobu čtyř hodin. Vzorky moči lze získat vyprázdnováním (čisté vyprázdnění střevní proud moči), očkováním nebo suprapubickou aspirací.

Vzorky je třeba inokulovat na destičku Uricultu Trio okamžitě po sběru. Destička by měla být ihned vrácena do své ochranné tuby a víčko pečlivě uzavřeno.

Jestliže je třeba vzorky moči před inokulací skladovat, je nutné je uchovávat v lednici při 2...8°C a ne déle než 24 hodin.

Výsledek testu může být ovlivněn, jestliže pacient již obdržel léčbu (zejména antibiotickou). Test by neměl být prováděn dříve než po 48 hodinách po poslední dávce medikace.

Pracovní postup

- Odsroubujte destičku z nádoby bez toho, aby jste se dotkli povrchu agaru.
- Držte Uricult Trio za víčko, ponořte destičku do čerstvě vyprázdněného, středního proudu moče tak, že povrch agaru je úplně ponořen. Jestliže tento postup objem moče nedovoluje, povrch agaru může být touto močí poči. Následně je nutno destičku naklánět, abyste se ujistili, že celý povrch agaru je namočen.
- Přebýtky moče nechejte z agaru odkapat.
- Pоследní kapky vysušte na savý papír.
- Destičku zašroubujte zpět do nádoby.
- Vypište štítek daty pacienta a připlejte jej na údobku.
- Nádobku umístěte vsvisle do inkubátoru (36±2°C) na 16–24 hodin. Nádobku lze také poslat do laboratoře k inkubaci.
- K získání počtu kolonií (CFU/ml), vyndejte destičku z nádoby a porovnejte hustotu kolonií s modelovou tabulkou, dodávanou v soupravě.

Pozn.:

- Při negativní kultivaci a komplikovaných vzorcích moče v vzorcích odebranych od katetrizovaných pacientů se doporučuje inkubace dalších 24 hodin, aby bylo zajištěno, že jsou detekovány pmořba rostoucí bakterie.
- Inokulovaná destička by měla být okamžitě inkubována nebo uchována mimo transportována do laboratoře pro další inkubaci a interpretaci. Uchovávání ani přeprava by neměly překročit hranici 48 hodin při 7...25°C, po kterých by Uricult Trio měl být inkubován 16–24 hodin při 36±2°C. Jestliže je destička uchovávána nebo transportována déle než 48 hodin, zaznamenat lze pouze přibližný růst a počet kolonií; barevná změna může být atypická.
- Inokulované destičky by měly inkubovány při pokojové teplotě 1–3 dny. Z těchto destiček ty pozitivní by měly být zaslány do specializované laboratoře k dalšímu zkoumání⁶. Negativní kultury by měly být inkubovány dalších 24 hodin k detekci pomalu rostoucích bakterií⁶.

Kontrola kvality

Kontrola kvality se provádí s každou šarží výrobku Uricult Trio v době výroby. Jestliže si uživatel přeje dělat vlastní zkoušku kvality, doporučujeme následující postup:

- Připravte suspenzi o koncentraci 10⁵–10⁶ bakterií/ml, a to následují-

Namen uporabe

Ploščna gojišča Uricult Trio so namenjena za diagnozo uroinfekcij.

Temeljna načela delovanja

Osnova testa Uricult Trio so tri agarska gojišča. Ena stran plastične plošči-ce je prekrita z zelenim gojiščem CLED, druga pa z rdečerjavim gojiščem MacConkey in brezbarvnim gojiščem za E. coli.

Gojišče CLED omogoča določitev skupnega števila bakterij v urinu. Gojišče MacConkey je namenjeno razlikovanju med gram-negativnimi in gram-pozitivnimi bakterijami. Soli žolčnih kislin v tem mediju namreč pre-prečijo rast vseh gram pozitivnih bakterij razen enterokokov, ki zrastejo v drobne kolonije. Gojišče E. coli je namenjeno predvsem za detekcijo gram-negativnih, β-glukuronidazo producirajočih organizmov, ki zrastejo v kolonije rjavih do sivih barv. *Escherichia coli* je najbolj pogost β-gluku-ronidazo producirajoči organizem prisoten v urinarnem traktu. Žolčne soli v gojišču E. coli preprečujejo rast gram-pozitivnih organizmov. Določene kvasovske lahko zrastejo na gojišču E. coli.

Reagenti

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Ploščnih gojišč	10
Nalepk za vpis pacientovih podatkov	10
Navodila za uporabo	1

Shranjevanje

Gojišča Uricult Trio hranite pri temperaturi 7...25°C zaščitená pred pre-pihom, temperaturnimi nihanjí in viri svetlobe. Izogibajte se shranjevanju v bližini ogrevalnih naprav. **Ne zamrzujte**. Datum uporabe je označen na embalaži.

Opozorila in zaščita

Uricult Trio je namenjen le za **in vitro** diagnostiko!

Testov ne uporabljajte po pretečenem datumu uporabnosti, označenem na embalaži. Pri rokovanju z vzorci ali testi nosite zaščitno obleko in rokavice za enkratno uporabo ter si nato temeljito umijte roke. Tudi v primeru spremembe barve gojišč, njihove dehidracije, odlepljanja s plastične osnove ali zaznane rasti gliv oz. bakterij gojišča niso uporabna. Zaradi realne oz. potencialne patogenosti bakterij v kolonijah, ki zrastejo na ploščnih gojiščih Uricult Trio, se kolonij ne dotikajte!

Odvzem in priprava vzorcev

Vzorec pridobimo iz urina, ki se je zadrževal v mehurju nekaj ur (idealno 4 ure) in sicer s prestrežanjem srednjega curka urina v čisto posodo, s kateterizacijo ali suprapubično punkcijo. Ploščno gojišče Uricult Trio inokuliramo TAKOJ po odvzemu vzorca. Nato ga vrnemo v zaščitno epruveto ter dobro zapremo. Če razmere ne dopuščajo takojšnje inokulacije, moramo vzorec urina OBVEZNO shraniti na hladno (2...8°C) za največ 24 ur. Na rezultat testiranja z Uricult Trio lahko vplivajo terapije proti različnim povzročiteljem infekcij, zato testa ne izvajamo prej kot 48 ur po zadnjem odmerku zdravila.

Postopek

- Odvijemo pokrovček in brez dotikanja testnih površin izvlečemo plošč-no gojišče iz epruvete.
- Gojišče Uricult Trio držimo za pokrovček in ga pomočimo v sveže odvzet urin tako, da testne površine popolnoma potopimo vanj. Če je volumen urina za to premajhen, lahko agar prelijemo z urinom. V vsakem primeru moramo zagotoviti, da pride celotna testna površina v stik z urinom.
- Pustimo, da odvečni urin odteče.
- Zadnje kaplje urina odstranimo s pomočjo vpojnega papirja.
- Ploščno gojišče vložimo nazaj v epruveto in tesno zapremo pokrov-ček.
- Izpolnimo nalepko s podatki o pacientu in jo nalepimo na epruveto.
- Epruveto v pokončnem položaju vstavimo v inkubator. Inkubiramo 16 do 24 ur pri temperaturi 36 ±2°C. Epruveto lahko pošljemo tudi na inkubacijo v laboratorij.
- Odvijemo pokrov ploščnega gojišča. Število kolonij/ml (CFU/ml oz. Colony Forming Units/ml) določimo tako, da primerjamo gostoto kolo-nij z referenčno tabelo v navodilih.

Opomba

- Negativna gojišča, zapletene vzorce ali vzorce vzete s katetrom je priporočljivo inkubirati dodatnih 24 ur za detekcijo počasi rastočih bakte-rij.
- Inokulirano gojišče inkubiramo takoj ali pa ga shranimo oz. prenesemo v laboratorij, kjer sledi inkubacija in interpretacija rezultatov. Hranjenje oz. transport naj ne presegata 48 ur pri 7...25°C. Nato je potrebna 16–24-urna inkubacija Uriculta Trio pri 36±2°C. Pri hranjenju oz. tran-sportu do 48 ur zabeležimo le število kolonij; barvna reakcija je v tem primeru lahko atipična.
- Inokulirano gojišče lahko inkubiramo 1–3 dni pri sobni temperaturi. Pozitivne kulture lahko nato pošljemo v specializiran laboratorij na nadaljnje preiskave⁵, negativne pa inkubiramo še dodatnih 24 ur za detekcijo počasi rastočih bakterij⁶.

Kontrola kakovosti

Kontrola kvalitete se izvaja v času proizvodnje na vsaki serijski številki testov Uricult Trio. Kontrolo kvalitete testa lahko izvede tudi končni porab-nik v laboratoriju. Priporočamo naslednji postopek:

- Pripravimo suspenzije bakterij v sterilni fiziološki raztopini. Vsak od sledečih sevov naj bo v koncentraciji 10⁵–10⁸ bakterij/ml.
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922

Uricult® Trio

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 rødbruntligt MacConkey medium og et farveløst E. coli medium. CLED mediet er beregnet til at påvise det totale bakterieantal. MacCon-key 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 al-mindelige 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

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

Opbevaring

Opbevar Uricult Trio ved 7...25°C, beskyttet mod træk, temperaturudsving og lyskilder. Undgå opbevaring i nærheden af varmegenererende appa-rater. **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 em-ballagen. 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 puses. Urinprøven bør inokuleres på Uricult Trio dip-sliden umiddelbart efter op-samling. Sliden skal så med det samme placeres i dets beskyttende plas-tikrør 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

- Skru sliden ud af plastikrøret uden at røre agaroverfladerne.
- Hold Uricult Trio dip-sliden i låget, dyp sliden i midtstråleurinprøven, så at agaroverfladerne bliver totalt neddyppet. Ved utilstrækkelig urin-mængde kan dip-sliden holdes vandret og urinen tilslættes på den opadvendte agaroverflade. Derefter vugges dip-sliden forsigtigt, indtil hele overfladen er blevet fugtet fuldstændigt med urin. Samme pro-cedure gentages på den anden side af dip-sliden.
- Lad overskudsurinen løbe omhyggeligt af sliden ved at placere den nederste kant af dip-sliden på kanten af urinbægeret.
- De sidste dråber urin afdryppes på et stykke sugende papir.
- Skru dip-sliden tilbage i røret.
- Udfyld etiket med patientinformationer og sæt denne på plastikrøret.
- 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.
- Antallet af kolonier (CFU/ml) aflæses ved at fjerne sliden fra plastik-røret og sammenligne kolonitætheden med modelkortet vedlagt kittet.

Note:

- Negative kulturer og komplicerede eller kateter-associerede UTI prø-ver anbefales at inkubere i yderligere 24 timer for at sikre at langsomt voksende bakterier detekteres.
- Inokuleret slide kan inkuberes straks, opbevares eller transporteres til et laboratorium for inkubation og vurdering. Opbevaring eller transpor-tering 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.
- Den inokuleret slide kan inkuberes ved stuetemperatur i 1–3 dage, herefter kan positive dyrkninger blive sendt til special laboratorier for yderligere undersøgelse⁵. Negative dyrkninger kan blive inokuberet i yderligere 24 timer for at påvise langsomt voksende bakterier⁶.

Kvalitetskontrol

IKvalitetskontrol 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:

Uricult® Trio

Bruksområde

En dyppkultur (dyrkningsmetode) for at påvise bakterier i urin ved diag-nostikk af urinvejsinfektioner.

Prinsipper i prosedyren

Uricult Trio dyppkultur består af en liten plastplate med tre dyrkningsme-dier (agarslide). En side av plastplaten er dækket med grønn CLED me-dium (agar) og den andre med rødbrun MacConkey medium (agar) samt en fargeløs E. coli agar. På CLED agaren vil alle vanlige urinveispatogener vokse. Mengden bakterier (kvantiteting) vurderes på CLED agaren ved hjelp av avlesningsmal (tolkningsmal). MacConkey agaren er tilssatt gallsalt og er derved selektiv for Gram-negative bakterier, med unntak av enkelte enterokokker som kan vokse med meget små kolonier. E-coli mediet påviser gram-negative beta-glucuronidase produserende bakterier som på dette mediet vokser med kolonier med varierende ny-anser av brunt eller grått. *Escherichia coli* er den vanligst forekommende β-glucuronidase produserende bakterie som forekommer ved urinveisin-feksjoner. Gallsalter i E. coli mediet hindrer vekst av gram-positive bakte-rier. Visse gylsopper kan allikevel vokse på E. coli mediet.

Reagenser

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Dyppkulturer	10
Pasientetiketter	10
Bruksanvisning	1

Oppbevaring

Uricult Trio skal oppbevares i temperaturer fra 7...25°C godt beskyttet fra trekk, temperatursvingninger og lyskilde. Unngå lagring nær varmekilder. **Må ikke utsettes for frost.** Utløpsdato er merket på esken.

Advarsler og forholdsregler

Kun til in vitro diagnostikk

Anvend ikke produktet etter utløpsdatoen på emballasjen. Bruk beskyttel-sesklær og engangshandsker under håndtering av prøver og tester, og vask hendene godt etterpå. Anvend ikke Uricult Trio hvis den er misfarvet, inntørket, agaren sitter løst på plastplaten eller det er bakterie- eller soppvækst på agaren. Da enhver vekst på Uricult Trio skal betraktes som potensiell patogen, må denne ikke berøres.

Klargjør urin av prøven og prøvetaking

Ideelt bør urin til bakteriell dyrkning ha vært i 4 timer før prøve-taking.Urinprøven tas som midtstråleprøve, via kateter eller som blære-punksjon.

Dypp Uricult Trio i urinen umiddelbart etter prøvetaking, sett agarsliden tilbake i røret, og skru godt igjen.

- c) *Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Suspensije inokuliramo po običajnem postopku na gojišča Uricult Trio.
- Rezultat interpretiramo po 16–48-urni inkubaciji, in sicer: **S. aureus ATCC 25923:** Raste le na gojišču CLED. Bakterije v ko-lonijah fermentirajo laktazo: kolonije so rumene barve, pojavi se tudi sprememba v barvi okoliškega gojišča (v rumeno). **E. coli ATCC 25922:** Na gojišču CLED zraste v rumene kolonije, gojišče se obarva rumeno; na gojišču MacConkey zraste v rozardeče kolonije. Na gojišču E. coli zrastejo rjave kolonije. **P. mirabilis ATCC 12453:** Na gojišču CLED zraste v prozorne koloni-je, gojišče se obarva modro; na gojišču MacConkey zraste v brezbarv-ne kolonije. Na gojišču E. coli zrastejo prozorne kolonije.

Interpretacija rezultatov

Kolonije, ki zrastejo po inkubaciji inokuliranega gojišča, so znak prisotno-sti bakterij v urinu. Kolonija nastane kot posledica razmnoževanja posa-mezne bakterijske celice, zato je število kolonij pokazatelj koncentracije CFU v vzorcu urina. Število kolonij določimo na originalno zelenem agarju CLED tako, da primerjamo gostoto kolonij na gojišču in referenčni tabeli. Za primerjavo je pomembno število kolonij, ne njihova velikost! Zeleno CLED gojišče je namenjeno šteju kolonij. Nizka koncentracija elek-trolitov v gojišču CLED preprečuje rojenje sevov rodu *Proteus*. Detekcijo bakterij, ki so sposobne fermentirati laktazo, omogočata bromtimol modro in laktazo. Laktazo-pozitivne seve tako razpoznamo po rumenih kolonijah. Rast spremlja tudi sprememba barve gojišča v okolici, ki postane srednje rumene barve. Laktazo-negativni sevi imajo v nasprotju s tem prozorne kolonije in ne povzročajo sprememb v barvi gojišča. Selektivni značaj gojišča MacConkey je posledica prisotnosti soli žolčnih kislin. Rdečerjavo selektivno gojišče MacConkey omogoča rast le gram-negativnim bakterijam, vendar lahko zrastejo tudi enterokoki, ki jih raz-poznamo po zelo drobnih kolonijah. Laktazo-pozitivne bakterije zrastejo v rdeče, laktazonegativne pa v prozorne kolonije. β-glukuronidazo pro-ducirajoči organizmi, ki zrastejo na brezbarvnem gojišču E. coli, oblikujejo rjave do sive kolonije^{8,9}. β-glukuronidazo negativne, gram-negativne bakterije pa zrastejo v prozorne kolonije. Kadar je v urinu veliko število bakterij (≥ 10⁷ CFU/ml), se pojavi prekriva-joča rast po celotni površini gojišča. Takšno rast lahko napačno interpe-triramo kot negativen rezultat. Zato je potrebno vsako gojišče, na katerem sicer ni opazne rasti, dodatno preveriti pod močno svetlobo; odsnost od-boja svetlobe je pokazatelj prekrivajoče rasti. Močna svetloba poleg tega omogoča tudi detekcijo zelo majhnih kolonij. Mešanica različnih bakterijskih sevov na gojišču Uricult Trio je najverjetneje posledica kontaminacije vzorca urina.

Omejitve postopka

Uricult Trio zazna koncentracijo bakterij v mejah od 10³ do 10⁷ CFU/ml. Re-ferenčna tabela omogoča določitev števila bakterij na potenco števila 10 natančno. Korelacija med določitvijo število kolonij s pomočjo referenčne tabele na eni in konvencionalno metodo⁷ (Sanford) na drugi strani je 99 % (ob upoštevanju napotkov za uporabo referenčne tabele).

Pričakovane vrednosti

Zadnje vrednosti, podane s strani ECLM-EUG European Urinalysis Guidelines (2000), so sledeče:

Metoda vzorčenja, klinični status	Število kolonij (CFU/ml)
Srednji curek urina, zadrževalni čas v mehurju < 4 h, pacient s simptomi	≥ 10 ³
Srednji curek urina, zadrževalni čas v mehurju > 4 h	≥ 10 ⁴⁻⁵
Kateterski vzorec (moški)	≥ 10 ³
Kateterski vzorec (ženske)	≥ 10 ⁴
Asimptomatska bakteriurija	≥ 10 ⁵
Subrapubična punkcija	kakršna koli rast

Opomba: V vzorcih urina z zadrževalnim časom < 4 h je včasih število kolonij manjše od 10³ CFU/ml.

Značilnosti delovanja

Uricult • Gojišče CLED

Arnell, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Št. vzorcev	140	Referenčna metoda: Metoda po Sanfordu
Občutljivost	100 %	
Specifičnost	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Odlaganje

- Vsebino odstraniti v skladu z državnimi in lokalnimi predpisi.
- Z vzorci pacientov in uporabljenimi deli je potrebno ravnati in odstraniti kot z morebitni kužni material.
- Materiali sestavnih delov: Papir: Navodila za uporabo, nalepke za paciente Karton: Škatla kompleta Plastika: Tulci, zamaški in ploščna gojišča
- V kolikor se reagenti uporabljajo v skladu z dobro laboratorijsko prakso, dobro higieno pri delu in navodili za uporabo, ti naj ne bi predstavljali tveganja za zdravje.

Brugsvejledning • Dansk

- Tilbered en 10⁵–10⁸ bakterier/ml suspension i sterilt saltvand af hver af følgende bakteriestammer:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Brug suspensionerne til at inokulere Uricult Trio agarsiderne, ved at anvende den anbefalede procedure.
- Aflæs resultaterne efter 16–48 timers inkubation som følgende: **S. aureus ATCC 25923:** Vækst af kolonier kun på CLED mediet. Kolo-nier 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 Mac-Conkey 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 sammen-ligne 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 påvis-ning af laktose-forgærende bakterier. Sådanne laktose-forgærende stam-mer 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 væk-sten 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 gennemsigtige 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 (≥ 10⁷ CFU/ml) i urinen, bliver agaroverfladerne totalt dækket af sammenflydende vækst. Dette kan fejltolkes som et negati-vt 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 sandsynlig-vis 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	≥ 10 ³
Midtstråleurin, stået i blæren > 4 timer	≥ 10 ⁴⁻⁵
Kateterprøve fra mand	≥ 10 ³
Kateterprøve fra kvinde	≥ 10 ⁴
Ikke symptomatisk bakteriuri	≥ 10 ⁵
Blærepunktur prøve	Al vækst

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

Funktionskarakteristik

Uricult • CLED medium		
Arnell, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Antallet af prøver	140	Referencemetode: Agarplade
Sensitivitet	100 %	
Specifitet	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 infektøst 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.

Bruksanvisning • Norsk

Urina kan oppbevares ved 2...8°C i inntil 24 timer før Uricult Trio dyppes i prøven.

Testresultatet kan påvirkes hvis pasienten er under antibiotika- eller profy-laksebehandling. Er pasienten under behandling, skal prøven tas 48 timer etter avsluttet behandling.

Prosedyre

- Skru agarsliden ut av plasthysen uten å berøre agaroverflatene. Dypp og hold agarsliden i godt blandet og usentrifugert urin i 3–5 sekunder, slik at agarsflatene blir godt fuktet av urin. La ca ½ cm av den øvre kant være ufuktet for kontroll ved avlesning. Unngå å helle urin eller bruke pipette. Er det lite urin bør agarsliden likevel dyppes, men anmerk (for eksempel på rekvisisjonen) hvor mye av agarsliden som er dyppet i urin.
- La overflådig urin renne av agarsliden.
- Fjern de siste dråpene ved å sette endestykket av agarsliden mot et rent, absorberende materiale.
- Sett agarsliden tilbake i plasthysen og skru godt igjen.
- Merk plasthysen med pasientens navn, fødselsdato og prøvetids-punkt.
- Plasser Uricult Trio i oppreist stilling i inkubator (35...37°C) i 16–24 timer. Alternativt kan Uricult Trio inkuberes 2–3 døgn i romtemperatur eller sendes direkte til mikrobiologisk laboratorium. Anmerk på rekvi-sisjonen avvikende oppbevaring eller manglende inkubering.
- Eter inkubering ved agarsliden ut av plasthysen for avlesning. Avles resultatet ved å sammenligne med avlesningsmal/tolkingsmal som følger med kitet eller som kan bestilles hos leverandøren.

Note:

- Negativ kultur samt kompliserte eller kateterrelaterte UVI- prøver an-befales alltid inkubasjon i oppbevarings 24 timer for å forsikre at bakterier med langsom oppvekst blir oppdaget.
- Uricult Trio kan inkuberes straks eller sendes til et mikrobiologisk labora-torium for inkubering og vurdering. Oppbevaring og transport bør ikke overskride 48 timer ved 7...25 °C. Deretter inkuberes Uricult Trio ved 35...37°C i 16–24 timer. Hvis oppbevaring og transport har vart i mer enn 48 timer kan fargereaksjonene være atypiske, og i dette tilfelle er det kun vekst og antall kolonier som kan vurderes.
- Uricult Trio kan inkuberes ved romperatur i 1–3 døgn. Positive dyrk-ninger kan deretter sendes til mikrobiologisk laboratorium for ytter-ligere identifikasjon og resistensbestemmelse. Negative dyrkninger kan inkuberes ytterligere 24 timer ved mistanke om langsomtvok-sende bakterier.

Norsk...

Kvalitetskontroll

I umiddelbar forlengelse av produksjonen av Uricult Trio, gjøres en kvalitetskontroll på hvert lot.nr. Ønskes egen kvalitetskontroll kan følgende prosedyre anbefales:

- Lag en 10⁵–10⁶ bakterie/ml steril saltoppløsning med hver av følgende bakterier:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Dypp Uricult Trio i oppløsningen, som om det var en urinprøve.
- Inkuber Uricult i 16-48 timer og les av følgende:

S. aureus ATCC 25923: Vekst av kolonier kun på CLED agaren. Koloniene er laktosefermenterende, som indikeres med koloniens gule farge og at agarens farge skifter mot gult.

E.coli ATCC 25922: Vekst av gule kolonier og et fargeskifte av CLED agaren mot gult og vekst av rosa-røde kolonier på MacConkey agaren. Vekst av brune kolonier på E. coli mediet.

P. mirabilis ATCC 12453: Vekst av gjennomskinnelige kolonier på CLED agaren og et fargeskifte av denne mot blått og vekst av fargeløse kolonier på MacConkey agaren. Vekst av fargeløse kolonier på E. coli mediet.

Tolking av testresultater

Etter inkubering av Uricult Trio vil tilstedeværende bakterier vises som kolonier på agaroverflaten. Da en koloni er et resultat av multiplikasjon (opppormering) av en enkelt bakteriecelle, vil antall kolonier indikere konsentrasjonen av antall bakterier (colony-forming units=CFU/ml) i urinprøven. Koloniantallet bedømmes på CLED agaren (den gule/grønne siden) ved å sammenligne kolonitettheten med bildene på tolkningsmalen (Model Chart). Det er viktig å bedømme antall kolonier og ikke kolonistørrelsen. Den lave elektrolytkonsentrasjonen i CLED agaren forhindrer spredning/sverming av *Proteus* stammer. Bromthymolblått og laktose i mediet gjør det mulig å påvise laktosefermenterende bakterier. Laktosefermenterende (laktose positive) bakterier vokser som gule kolonier og endrer CLED agarens grønne farge til gul. De laktose-negative stammene vokser som gjennomskinnelige kolonier og forårsaker ingen endring av agarens farge. Den rødbrune selektive MacConkey agaren fremmer veksten av gram-negative bakterier, men også enkelte enterokokker kan vokse som meget små kolonier (pinpoint) på agaren⁷. Tilsetning av gallsalt er årsaken til agarens selektivitet. Laktose-positive bakterier vokser som røde kolonier og laktose-negative bakterier som gjennomskinnelige kolonier på denne agaren. Beta-glucuronidase-produserende bakterier vokser på det fargeløse E.coli mediet med kolonier i varierende nyanser av brunt og grått^{8,9}. β-glucuronidase-negative, gram-negative bakterier vokser med gjennomskinnelige/fargeløse kolonier på dette mediet.

Uricult® Trio

Metodbeskrivning • Svenska

Avsedd användning

En dipslide (odlingsmetod) för att diagnostisera urinvägsinfektioner genom att påvisa mikrober i urinen.

Metod

Uricult Trio systemet baseras på tre agarmedia. En sida av plastsliden är täckt med grön CLED-agar medan den andra med både rödbrunfärgad MacConkey-agar och en färglös E. coli -agar. CLED-agarmediet är avsett för att bestämma totala bakteriekonsentrasjonen. MacConkey-agarmediet är avsett för påvisande av gramnegativa mikrober. Mediet är selektivt genom tillsats av gallsalter vilka förhindrar växt av grampositiva mikrober, förutom enterokocker som kan växa med kolonier små som knappålshuvuden. E. Coli -agarmediet är avsett för påvisande av gramnegativa β-glucuronidase-produserande mikrober som på detta mediet växer som kolonier i varierende nyanser av brunt eller grått. *Escherichia coli* är den vanligast förekommande β-glucuronidase-produserande mikroben som påträffas vid urinvägsinfektioner. Gallsalter i E. coli-mediet hindrar växt av grampositiva mikrober. Vissa jästsvampar kan dock växa på E. Coli -mediet.

Reagenser

Innehåll

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Dipslide	10
Etiketter för patient ID	10
Metodbeskrivning	1

Förvaring

Förvara Uricult Trio i 7...25°C skyddad från drag, temperaturförändringar och ljusskallor. Undvik förvaring nära värmegenererande apparater. **Tål inte att frysas.** Utgångsdatum är tryckt på ytterkartongen.

Varningar och försiktighetsåtgärder

Endast för *in vitro* diagnostik.

Använd ej produkten efter utgångsdatum. Datum finns tryckt på ytterförpackningen: Expiry date. Använd skyddskläder och engångshandskar när prover eller tester hanteras och tvätta händerna noggrant efteråt. Använd inte Uricult Trio om agarytorna är missfärgade, dehydrerade, har släppt från sliden eller om det finns några tecken på bakteriell- eller svamp växt.

Då alla kolonier som växer på Uricult Trio är potentiellt patogena – undvik att röra kolonierna.

Provtagning och provberedning

Idealtiskt är att urinen står i blåsan fyra timmar innan provtagning. Urinprovet tas som ett mittstråleprov, via kateter⁷ eller blåspunktion. (†I Sverige är kateterprovet inte rekommenderat.) Provet ska inkuberas på Uricult Trio sliden omedelbart efter provtagning. Sliden sätts sedan tillbaka i sitt rör och korken skruvas åt ordentligt. Om provet inte kan inkuberas omedelbart kan det förvaras i kyl, 2...8°C, i högst 24 timmar. Uricult Trio -resultatet kan påverkas av att patienten har fått antibiotika-behandling. Testen ska inte utföras förrän 48 timmar efter avslutad medicinering.

Förfarande

- Skruva sliden ur röret. Undvik att röra vid agarytorna.
- Håll i Uricult Trions lock och doppa sliden i urinprovet så att båda agarytorna blir helt våta**. Om urinvolymen inte är tillräckligt stor kan urinen hällas över agarytorna och sliden vickas fram och tillbaka för att urinen skall täcka ytor****. (Sverige: **Doppa endas 2/3 av agarytorna och använd den övre 1/3 som referenszon vid avläsningen. ****Tänk på att även här spara 1/3 av ytan som referenszon.)
- Låt överskottsurinen rinna av.
- Sug upp de sista dropparna med ett rent papper.
- Skruva tillbaka sliden i röret.
- Märk röret med patientens ID.
- Ställ röret i en inkubator (36±2°C) i 16–24 timmar. Röret kan också skickas till ett laboratorium för inkubering.
- För att bedöma bakteriekoloniernas antal och utseende tas sliden ur röret och jämförs mot tolkningsmal som medföljer förpackningen.

Notera:

- Negativa kulturer och komplicerade eller kateterrelaterade UVI-prov rekommenderas att alltid inkuberas i ytterligare 24 timmar för att säkerställa att långsamma bakterier detekteras.
- Den inkuberade sliden kan inkuberas omedelbart eller förvaras och transporteras till ett laboratorium för inkubering och bedömning. Förvaring och transport ska inte överstiga 48 timmar i 7...25°C, efter vilken sliden ska inkuberas i 36±2°C i 16–24 timmar. Om sliden har förvarats eller transporterats under mer än 48 timmar kan enbart förekomst av växt och antalet kolonier bedömas eftersom färgreaktionerna nu kan vara atypiska.
- En inkuberad slide kan inkuberas i rumstemperatur under 1–3 dygn och då positiva odlingar kan skickas till specialiserat laboratorium för vidare bedömning⁹. Negativa odlingar kan inkuberas i ytterligare 24 timmar för detektion av långsamt växande bakterier⁶.

Kvalitetskontroll

Kvalitetskontroller utförs vid tillverkningen av varje lot av Uricult Trio. Om användaren önskar att själv göra sitt egna kvalitetskontrollsmaterial rekommenderar vi följande:

- Förbered en 10⁵–10⁶ bakterie/ml lösning i sterilt koksalt av följande bakteriestammar:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453

Uricult® Trio

Käyttöohje • Suomi

Käyttötarkoitus

Virtsatieinfektion diagnosointiin liittyvä, viljelyyn perustuva kastolevymenelmä mikrobin osoittamiseen virtsasta.

Toimintaperiaate

Uricult Trio:ssa on kolme elatusainetta. Muovilevyn toinen puoli on päällystetty vihertävällä CLED-elatusaineella ja toinen puoli punertavalla MacConkey-elatusaineella sekä värittömällä E. coli -elatusaineella. CLED-elatusaineella todetaan mikrobin kokonaismäärä. MacConkey-elatusaine on tarkoitettu gram-negatiivisten mikrobin toteamiseen. Elatusaineeseen lisätty sappisuola estää gram-positiivisten mikrobin kasvua, lukuunottamatta enterokokkeja, jotka saattavat kasvaa pieninä pesäkkeinä. E. coli -elatusaine on tarkoitettu erityisesti gram-negatiivisten β-glukuronidaasia tuottavien mikrobin toteamiseen, jotka kasvavat sillä ruskean-harmaan eri sävyisinä pesäkkeinä. Virtsatieinfektoiden yhteydessä *Escherichia coli* on yleisin β-glukuronidaasia tuottava mikrobi. Gram-positiivisten mikrobin kasvu on estetty sappisuolilla, tietyt hiivat kuitenkin kasvavat elatusaineella.

Reagenssit

Sisältö

Uricult Trio	Cat. No. 68197
Kastolevyt	10
Näytetarrat	10
Käyttöohje	1

Säilytys

Uricult Trio säilytetään 7...25°C:ssa suojattuna vedolta, lämmönvaihteilulta sekä valolta. Tuotetta ei tule säilyttää lämpöä tuottavien laitteiden läheisyydessä. **Uricult ei saa jäätyä.** Säilyvyysaika on merkitty koteloon.

Varoitukset ja varoimet

Uricult Trio on tarkoitettu ainoastaan *in vitro* diagnostiseen käyttöön. Tuotetta ei tule käyttää rasiaan merkityn vanhenemispäivämäärän jälkeen. Käytä kertakäyttökäsitelimiä näytteitä tai testejä käsitellessäsi ja pese kätesi huolellisesti käsitelyn jälkeen. Tuotetta ei tule käyttää, jos elatusaineessa ilmenee värimuutoksia tai kuivumista tai jos elatusaine on irronnut muovilevystä tai sillä esiintyy mikrobikasvua. Koska Uricult Trio:n elatusaineella kasvavat pesäkkeet ovat todellisia tai mahdollisia patogeeneja, kasvustoa ei tule koskettaa.

Näytteenotto ja valmistelu

Viljelyä varten virtsanäytteen tulisi olla ollut rakossa 4 tuntia ennen näytteenottoa. Tavallisimmin tutkitaan puhtaastilaskettu virtsa (keski-suihkunäyte). Viljelyyn voidaan käyttää myös katetvirtsanäytettä tai akkopunktionäytettä. Näyte tulisi siirrostaa Uricult Trio:lle välittömästi näytteenoton jälkeen. Siirrostuksen jälkeen levy viedään välittömästi takaisin putkeen, joka suljetaan huolellisesti. Jos virtsanäytettä joudutaan säilyttämään ennen siirrostusta Uricult Trio:lle, ne tulisi säilyttää jäähdytettynä 2...8°C:n lämpötilassa korkeintaan 24 tuntia.

Lääkitys (erityisesti antibiootit) voi vaikuttaa Uricult Trio -tulokseen eikä testiä tulisi suorittaa ennenkuin 48 tuntia on kulunut viimeisestä lääkennoksesta.

Testin suoritus

- Levy poistetaan putkesta koskematta elatusainepintoa.
- Uricult Trio kastetaan puhtaastilaskettuun keskivirtsanäytteeseen tulpasta kiinni pitäen niin, että molemmat elatusainepinnat kostuvat kauttaaltaan. Jos virtsamäärä ei ole riittävä, kostutus voidaan suorittaa kaatamalla virtsanäyte elatusaineelle samalla käännellen levyä niin, että koko pinta kostuu.
- Virtsan ylimäärän annetaan valua levyltä.
- Loppu imeytetään imukykyiseen paperiin kopauttamalla kevyesti.
- Levy viedään takaisin putkeen ja suljetaan huolellisesti.
- Näytetarra täytetään ja kiinnitetään putkeen.
- Uricult Trio kasvatetaan lämpökäapissa (36 ± 2°C) pystysuorassa asennossa 16–24 tunnin ajan. Putki voidaan myös lähettää laboratorioon kasvatusta varten.
- Tulostusta varten levy poistetaan putkesta ja pesäketiheyttä verrataan rasiassa olevaan mallituluun, jolloin tuloksena saadaan pesäkeluku CFU/ml.

Huom:

- Negatiivista kasvutulosta sekä komplisoituja ja katetrintointiin liittyviä UTI-näytteitä suositellaan aina inkuboimaan edelleen 24 tuntia hiitaasi kasvavien bakteerien havaitsemiseksi.
- Näytteeseen kastettu levy voidaan kasvattaa välittömästi tai kuljettaa laboratorioon kasvatettavaksi ja tulostettavaksi. Kasvatusta edeltävän säilytyksen tai kuljetuksen ei tule ylittää 48 tuntia 7...25°C:ssa, jonka jälkeen Uricult Trio kasvatetaan 36±2°C:ssa 16–24 tuntia. Jos levyä on säilytetty tai kuljetettu 48 tuntiin asti, siltä voidaan suosittaa vain kasvu- tai pesäkelukutulosta, väireaktio voi olla epätyypillinen.
- Näytteeseen kastettu levy voidaan kasvattaa huoneenlämmössä 1–3 päivää, jonka jälkeen positiiviset kasvustot voidaan lähettää erikoislaboratorioon jatkotutkimuksiin⁹. Negatiiviset levyt voidaan kasvattaa edelleen 24 tuntia 36±2°C:ssa hiitaasti kasvavien bakteerien varmistamiseksi⁸.

Laadunvalvonta

Valmistuksen yhteydessä kullekin Uricult Trio -kastolevyerälle tehdään laadunvarmistustestaukset. Jos käyttäjää kuitenkin haluaa suorittaa oman laadunvarmistuksensa, seuraavaa käytäntö on suositeltava:

- Seuraavista bakteerilajeista tehdään laimennokset 10⁵–10⁶ bakteria/ml steriiliin suolaliuokseen
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453

Hvis bakterieinnholdet i urinen er meget høyt (≥10⁷ CFU/ml) kan agaroverflaten være fullstendig dekket av sammenflytende (konfluerende) vekst. Dette kan mistolkes som et negativt resultat. Hvis en agaroverflate forekommer negativ, bør den avleses under reflekterende lys: Uteblivelse av refleksjon indikerer sammenflytende vekst. Meget sterkt lys vil også avsløre små kolonier. Vurder mot øvre del av agarflaten som ikke er fukket av urin. (Se Testprosedyre pkt 2). En blanding av forskjellige bakteriearter på Uricult Trio skyldes sannsynligvis forurensing av urinprøven.

Begrensninger ved prosedyren

Uricult Trio kan påvise bakteriekonsentrasjoner mellom 10³ og 10⁷ CFU/ml. Model Chart (tolkningsmal) viser nærmeste koloniantall til nærmeste tiende potens. Brukes Model Chart riktig, viser koloniantallet 99 % samsvar med den konvensjonelle dyrkningsmetoden¹.

Forventede verdier

Vurder først om det er blandingsflora eller renkultur. Blandingsflora skyldes ofte forurensing og videre undersøkelser er som oftest ikke nødvendig. Mengde bakterie vurderes på CLED-agaren. Renkultur av bakterier =>10⁴ CFU/ml regnes som signifikant vekst. Renkultur av bakterier =>10⁴ CFU/ml kan vurderes for om det er oppevkest av gram-positive eller gram-negative bakterier. Dette gir indikasjon for hvilken type antibiotika som bør foreskrives. Renkultur med signifikant vekst kan sendes mikrobiologisk laboratorium for videre utredning og resistensbestemmelse.

Egenskaper

Uricult • CLED medium

Arnei, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Antall prøver	140	Referansemetode:
Sensitivitet	100 %	Agarplate
Spesifisitet	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Avhendng

- Avfallshåndtering i henhold til nasjonale og lokale lover.
- Alle pasientprøver og brukte komponenter må håndteres som potensielt smittefarlig avfall.
- Komponentene inneholder følgende materiale:

Papir: Brukerinstruksjon, pasientetiketter

Kartong: Reagenseske

Plastikk: rør, lokk og dipslide
- Når brukt i samsvar med god laboratoriepraksis, god hygiene og brukerinstruksjoner skal ikke testene utgjøre noen helseisiko.

- Använd lösningarna till att inkulera Uricult Trio sliderna, följ testproceduren.
- Avläs resultatet efter 16–48 timmars inkubation enligt följande:

S. aureus ATCC 25923: Växt av kolonier enbart på CLED mediet. Kolonierna fermenterar laktos, vilket indikeras av koloniernas gula färg och färgförändringen i mediet.

E. coli ATCC 25922: Växt av gula kolonier, färgskiftning mot gult av CLED mediet och växt av rosaröda kolonier på MacConkey mediet. Växt av bruna kolonier på E. coli -mediet.

P. mirabilis ATCC 12453: Växt av genomskinliga kolonier, färgskiftning mot blått av CLED mediet och växt av färglösa kolonier på MacConkey mediet. Växt av färglösa kolonier på E. coli -mediet.

Tolkning av resultat

Etter inkubering av den inkulerade sliden ses forekomst av bakterier som kolonier på agarytorna. Då en koloni är ett resultat av att en enskild bakteriecell förkårt sig, är antalet kolonier ett tecken på konsentrasjonen av colony-forming units (CFUs/ml alt CFUs/l) i urinprovet. Bedømming av antalet kolonier görs fram, det från början grönfärgade, CLED-agarmediet genom att jämföra slidens kolonitåthet med tolkningsmallens bilder och välja den som stammer bäst överens. Det är viktigt att bedöma antalet kolonier och inte deras storlek.

Den låga elektrolytkonsentrasjonen i CLED-agarmediet förhindrar spridning av *Proteus* stammar. Bromthymolblått og laktos i mediet tillåter påvisande av laktosefermenterande bakterier. Sådana laktosefermenterande stammar växer som gula kolonier og endrer mediets färg till gult, medan laktosnegativa stammar växer med genomskinliga kolonier og endrar inte mediets färg.

Det från början rödbruna, selektiva, MacConkey-agarmediet gynnar växt av gramnegativa mikrober men även enterokocker kan växa som kolonier små som knappålshuvuden⁷. Laktospositiva mikrober växer med röda kolonier og laktosnegativa med ofärgade kolonier.

β-glucuronidase-produserande mikrober växer på det ofärgade E. coli -agarmediet med kolonier i varierende nyanser av brunt og grått^{8,9}. β-glucuronidase-negativa, gram-negativa mikrober växer med genomskinliga kolonier på detta mediet.

Om urinens bakteriekonsentrasjon är hög (≥ 10⁷ CFU/ml), kan agarytan helt täckas av konfluerande växt. Detta kan misstolkas som ett negativt resultat. Därför är det viktigt att alltid avläsa sliden under reflekterande ljus; avsaknad av refleksjon påvisar konfluerande växt. Med ett sterkt ljus kan också mycket små kolonier lättare påvisas.

En blanding av olika bakteriestammar vid odling med Uricult Trio är troligtvis orsakad av att urinprovet kontaminerats.

Metodens begränsningar

Uricult Trio kan detektera bakteriekonsentrasjoner mellan 10³ och 10⁷ CFU/ml. Tolkningsmallen tillåter bedömning av koloniantal till närmsta tiopotens. Med tolkningsmallen till hjälp och utfört enligt instruktion, ses, vid bedömning av koloniantalet, en 99 % överensstämmelse med konventionell odlingsmetod¹.

Förväntade värden

Följande värden baseras på det slutliga utkastet av ECLM-EUG, European Urinalysis Guidelines (2000).

Provtagningsmetod, klinisk status	Signifikant koloniantal (CFU/ml)
Mittstråle, blästid < 4 timmar, symptomatisk patient	≥ 10 ³
Mittstråle, blästid > 4 timmar	≥ 10 ⁴⁻⁵
Kateterprov från man****	≥ 10 ³
Kateterprov från kvinna****	≥ 10 ⁴
Asymtomatisk bakteriuri	≥ 10 ⁵
Punktionsprov	Växt
(**** I Sverige är kateterprovet inte rekommenderat)	

Notera: I vissa fall kan urinprov där urinen stått mindre än 4 timmar i blåsan ge kliniskt signifikanta koloniantal som understiger 10³ CFU/ml.

Prestanda

Uricult • CLED medium

Arnei, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Antal prover	140	Referensmetod:
Sensitivitet	100 %	Agarplatta, Petridisk
Specificitet	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Kassering

- Material lämnas enligt nationell och lokal lagstiftning.
- Alla patientprover och använda komponenter ska hanteras och kasseras som biologiskt och potentiellt smittförande material.
- Material i komponenterna:

Papper: Bruksanvisning, patientetiketten

Kartong: Kitlåda

Plast: Rör, lock och dipslide-platta
- Vid användning enligt god laboratoriepraxis, god arbets-hygien och denna bruksanvisning bör reagensen inte utgöra någon hälsofara.

- Laimennokset viljellään Uricult Trio -kastolevyille normaalia käytäntöä noudattaen
- Tulokset tulkaista 16–48 tunnin kasvatuksen jälkeen seuraavasti:

S. aureus ATCC 25923: Kasvu vain CLED-elatusaineella. Pesäkkeet käytävää laktosia, jonka osoittaa pesäkkeiden keltainen väri ja elatusaineen värin muuttuminen kellertäväksi.

E. coli ATCC 25922: Keltaisten pesäkkeiden kasvu ja elatusaineen värin muuttuminen kellertäväksi CLED-elatusaineella. Vaaleanpunaisen pesäkkeiden kasvu MacConkey-elatusaineella. Ruskeiden pesäkkeiden kasvu E. coli -elatusaineella.

Proteus mirabilis ATCC 12453: Värittömiän pesäkkeiden kasvu CLED-elatusaineella, elatusaineen väri mahdollisesti sinertävä. Värittömiän pesäkkeiden kasvu MacConkey-elatusaineella. Värittömiän pesäkkeiden kasvu E. coli -elatusaineella.

Tulosten tulkitinta

Kasvatuksen jälkeen bakteerit todetaan näytteeseen kastetuilta levyltä pesäkekäsvuna elatusaineella. Koska pesäkkeen muodostuminen on seurausta yksittäisten bakteerisolun jakautumisesta, pesäkkeiden lukumäärä ilmaisee virtsanäytteessä olevien pesäkkeitä muodostavien yksiköiden (CFU = Colony Forming Unit / pesäkkeitä muodostava yksikkö) lukumäärän. Pesäkeluvun määritys tapahtuu alun perin vihreältä CLED-elatusaineelta, vertaamalla pesäkkeiden tiheyttä mallituluun lähinnä vastaavaan tiheyteen. Tällöin huomio kiinnitetään pesäkkeiden lukumäärään, ei pesäkekokoון.

CLED-elatusaineen alhainen elektrolyyttipitoisuus estää *Proteus*-lajien leviämistä. Bromthymolisininen ja laktosii edesauttavat bakteerien laktoosin käytön toteamista. Laktoosi-positiiviset bakteerit kasvavat elatusaineella punaisina pesäkkeinä ja muuttavat elatusaineen värin keltaiseksi, kun taas laktosii-negatiiviset pesäkkeet kasvavat värittömänä elatusaineen värin pysyessä muuttumattomana.

Alun perin punertavalla MacConkey-elatusaineella kasvavat gram-negatiiviset bakteerit, mutta myös tietyt enterokokit saattavat kasvaa pieninä pesäkkeinä⁷. Laktoosi-positiiviset bakteerit kasvavat elatusaineella punaisina ja laktosii-negatiiviset bakteerit värittömänä pesäkkeinä.

β-glucuronidaasia tuottavat mikrotit kasvavat värittömällä E. coli -elatusaineella ruskean-harmaan eri sävyisinä pesäkkeinä^{8,9}. Muut kuin β-glukuronidaasia tuottavat gram-negatiiviset bakteerit kasvavat elatusaineella värittömänä pesäkkeinä.

Kun pesäketiheys on suuri (≥ 10⁷ CFU/ml), elatusaineen pinta voi olla peittyntynyt koko pinnan kattavalla yhtenäisellä kasvustolla. Tämä voidaan tulkita vihreällisesti negatiiviseksi tulokseksi. Tämän vuoksi negatiiviselta vaikutusta elatusainepinta pitäisi varmistaa heijastavan valon alla; heijastuksen puute viittaa yhtenäiseen kasvuun. Kirrkkaan valon avulla myös pienten pesäkkeiden havaitseminen on helpompaa.

Jos bakteerikasvusto on sekakasvustoa, usean bakteerilajin muodostama, tulos on yleensä seurausta virtsanäytteen kontaminaatiosta.

Menetelmän rajoitukset

Uricult Trio:lla voidaan todeta virtsan bakteeripitoisuudet alueella 10³ ja 10⁷ CFU/ml. Mallituluun avulla voidaan määrittää pesäkeluvut lähimpään 10 potenssiin. Ohjeen mukaisesti käytettynä saatu pesäkelukutulos korreloi perinteisen maljaluvonmenetelmän kanssa 99 %¹.

Viitearvot

Seuraavat arvot perustuvat ECLM-EUG:n European Urinalysis Guidelines-ohjeistoon vuodelta 2000.

Näytteenottomenetelmä, kliininen status	Merkittävä pesäkeluku CFU/ml
Keskivirtsa, rakkokaika < 4 tuntia, oireellinen potilas	≥ 10 ³
Keskivirtsa, rakkokaika > 4 tuntia	≥ 10 ⁴⁻⁵
Katetrinäyte miehiltä	≥ 10 ³
Katetrinäyte naisilta	≥ 10 ⁴
Oireeton bakteriuria	≥ 10 ⁵
Rakkopunktionäyte	Kasvua

Huom. Joissain tapauksissa kliinisesti merkittävä < 4 tunnin rakkovirtsatulos voi olla pesäkeluvultaan alle 10³ CFU/ml.

Testin luotettavuus

Uricult • CLED elatusaine

Arnei, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Näytetäänäärä	140	Referenssimenetelmä:
Herkyys	100 %	Maljavalu (Ravinto-agar)
Spesifisyys	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Hävitäminen

- Täpittäkauseen sisältö hävitetään käsiallisten ja paikallisten lakien mukaisesti.
- Kaikkia potilasnäytteitä ja käytettyjä osia tulee käsitellä ja hävittää mahdollisesti tarjottavaraalisina aineina.
- Osien materiaalit:

Paperi: Käyttöohje, potilastarrat

Pahvi: Kotelö

Muovi: Putket, korkit ja kastolevyt
- Tuote ei aiheuta käyttäjälle terveydellistä haittaa, jos sitä käytetään käyttöohjeen mukaisesti noudattaen hyvää työhygieniää ja hyvän laboratoriolyöskentelyn periaatteita (Good Laboratory Practice).