Namen
Plošćna gojišća Uricult so namenjena ugotavljanju bakteriurij.

Vsebina

Uricult	Cat. No. 67404
Ploščnih gojišč	10
Nalepk za vpis pacientovih podatkov	10
Navodila za uporabo	1

Princip
Osnova testa Uricult sta dvo agarski gojišči. Ena stran plastične ploščice je prekrita z zelenim gojiščem CLED, druga pa z rdečerjavim gojiščem MacConkey za detekcijo mikrobnih povzročiteljev infekcij urinarnega trakta.
Gojišče CLED omogoča dokončev skupnega števila bakterij v urinu. Gojišče MacConkey je namenjeno različevanju med gram-negativnimi in gram-pozitivnimi bakterijami. Zaščne kisline v tem mediju namreč preprečijo rast vseh gram-pozitivnih bakterij razen enterokokov, ki zrastejo v drobne kolonije. Gram-negativne bakterije na gojišču MacConkey rastejo normalno.

Sestava gojišć

Gojišče CLED		Gojišče MacConkey	
Pepton	10,0 g/l	Pepton	20,0 g/l
Mesni ekstrakt	3,0 g/l	Laktoza	10,0 g/l
Laktoza	10,0 g/l	Nevtralno rdeče	0,075 g/l
L-Cistin	0,13 g/l	Žolčne kisline	0,8 g/l
Bromtimol modro	0,03 g/l		

Opozorila in previdnostni ukrepi
Uricult je namenjen le za *in vitro* diagnostiko!
Testov Uricult ne uporabljajte po pretečenem datumu uporabnosti, označenem na škatli. Pri rokovanju z vzorci ali testi nosite zaščitno obleko in rokavice za enkratno uporabo tor 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 gojiščh Uricult, se kolonij ne dotikajte!

Shranjevanje
Gojišča Uricult hranite pri temperaturi 7...25°C v prostoru, kjer ni prepiha ali vočjih temperaturnih nihanj. Testov na shranjujte v bližini ogrevalnih naprav. **Ne zamrzujte!** Datum uporabnosti je označen na embalaži.

Priprava in hranjenje urinskih vzorcev
Vzorec pridobimo iz urina, ki se je zadrževal v mehurju nekaj ur (idealno 4 ure) in sicer s prestrezanjem srednjega curka urina v čisto posodo. s kateterizacijo ali suprapubično punkcijo.
Plošćno gojišče Uricult inokuliramo TAKOJ po odvzemu vzorca. Nato ga vmemo 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 Uricultom lahko vplivajo terapije proti različnim povzročiteljem infekcij, zato testa ne izvajamo prej kot 48 ur po zadnjem odmerku zdravila.

Postopek
1. Odvijemo pokrovček in brez dotikanja agarskih površin izvlečemo plošćno gojišče iz epruvete.
2. Gojišče Uricult držimo za pokrovček in ga pomočimo v sveže odvzet urin tako, da agarske površine popolnoma potopimo vanj. Če je volumen urina za to premajhen, lahko agar prelijemo z urinom. V vsakem primeru moramo zagotoviti, da pride celotna agarska površina v stik z urinom.
3. Pustimo, da odvečni urin odteče.
4. Zadnje kaplje urina odstranimo s pomočjo vpojnega papirja.
5. Plošćno gojišče vložimo nazaj v epruveto in tesno zapremo pokrovček.
6. Izpolnimo nalepko s podatki o pacientu in jo nalepimo na epruveto.
7. Epruveto Uricult vstavimo v pokončnem položaju vstavimo v inkubator. Inkubiramo 16 do 24 ur pri temperaturi 36±2°C. Epruveto lahko pošljemo tudi na inkubacijo v laboratorij.
8. Odvijemo pokrov plošćnega gojišča. Število kolonij/ml (CFU/ml oz. Colony Forming Units/ml) določimo tako, da primerjamo gostoto kolonij z referenčno tabelo v navodilih.

Opomba:
1. Gojišča, na katerih ni zaznavne rasti, lahko inkubiramo dodatnih 24 ur za detekcijo počasi rastočih bakterij.
2. 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 pri 36±2°C. Pri hranjenju oz. transportu do 48 ur zabeležimo le število kolonij; barvna reakcija je v tem primeru lahko atipična.
3. Inokulirano gojišče lahko inkubiramo 1–3 dni pri sobni temperaturi. Pozitivne kulture lahko nato pošljemo v specializiran laboratorij na nadaljnje preiskave[1]; negativne pa inkubiramo dodatnih 24 ur za detekcijo počasi rastočih bakterij[2].

Interpretacija rezultatov
Kolonije, ki zrastejo po inkubaciji inokuliranega gojišča, so znak prisotnosti bakterij v urinu. Kolonija nastane kot posledica razmnoževanja posamezne bakterijske celice, zato je število kolonij pokazatelj koncentracije CFU/ml v vzorcu urina. Število kolonij določimo na originalno zeleneem gojišču CLED s primerjavo gostote kolonij na gojišču s tisto na referenčni tabeli.
Za primerjavo je pomembno število kolonij, ne njihova velikost!
Nizka koncentracija elektrolitov v gojišču CLED preprečuje rojenje sevov Proteus-a. Detekcijo bakterij, ki so sposobne fermentirati laktozo, omogočasa bromtimol modro in laktoza. Laktoza-pozitivne seve tako razpoznamo po rumenih kolonijah. Rast spremlja tudi sprememba barve gojišča v okolici, ki postane srednje rumene barve. Laktoza-negativni sevi imajo v nasprotju s tem prozorne kolonije in ne povzročajo sprememb v obarvanosti gojišča.
Selektivni značaj gojišča MacConkey je posledica prisotnosti žolčnih soli. Originalno rdečerjavo selektivno gojišče MacConkey omogoča rast le gram-negativnim bakterijam, vendar lahko zrastejo tudi enterokoki, ki jih razpoznamo po zelo drobnih kolonijah. Laktoza-pozitivne bakterije zrastejo v rdeče, laktoza-negativne pa v prozorne kolonije.
Kadar je v urinu večko število bakterij (≥ 10^7 CFU/ml), se pojavi prekrivajoča rast po celotni površini gojišča. Tekšno rast lahko napačno interpretiramo kot negativen rezultat. Zato je potrebno vsako gojišče, na katerem sicer ni opazne rasti, dodatno preveriti pod močno svetlobo; odsotnost odbeja svetlobe je pokazatelj prekrivajoče rasti. Močna svetloba poleg tega omogoča tudi detekcijo zelo majhnih kolonij.
Mešanica različnih bakterijskih sevov na gojišču Uricult je najverjetneje posledica kontaminacije vzorca urina.

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

Metoda vzorčenja, klinični status	Število kolonij (CFU/ml)
Srednji curek urina, zadrževalni čas v mehurju < 4 h, pacient s simptomi	≥ 10^5
Srednji curek urina, zadrževalni čas v mehurju > 4 h	≥ 10^{4-5}
Kateterski vzorec (moški)	≥ 10^5
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 10^5 CFU/ml.	

Omejitve postopka
Uricult zazna koncentracijo bakterij v mejah od 10^3 do 10^7 CFU/ml. Referenčna tabela omogoča dokončev število bakterij na potenco števila 10 natančno. Korelacija med določčijo št. kolonij s pomočjo referenčne tabele na eni in konvencialno metodo' (Sanford) na drugi strani je 99 % (ob upoštevanju napotkov za uporabo referenčne tabele).

Značilnosti testa
Uricult ● Gojišče CLED

Arnell, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121[3].

Št. vzorcev	140	Referenčna metoda:
Občutljivost	100 %	Metoda po Sanfordu
Specifičnost	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Kontrola kvalitete
Kontrola kvalitete se izvaja v času proizvodnje na vsaki serijski števiki testov Uricult. Kontrolo kvalitete testa lahko izvede tudi končni poratnik v laboratoriju. Priporočamo naslednji postopek:
1. Pripravimo suspenzije bakterij v sterilni fiziološki raztopini. Vsak od sledečh sevov naj bo v koncentraciji 10^5–10^6 bakterij/ml.
   a) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
   b) *Escherichia coli* ATCC 25922
   c) *Proteus mirabilis* ATCC 12453
2. Suspenzije inokuliramo po običajnem postopku na gojišča Uricult.
3. Rezultat interpretiramo po 16–24 urni inkubaciji, in sicer:
   ***S. aureus* ATCC 25923:** Raste le na gojišču CLED. Bakterije v kolonijah fermentirajo laktozo: 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 rozaredče kolonije.
   ***P. mirabilis* ATCC 12453:** Na gojišču CLED zraste v prozorne kolonije, gojišče se obarva modro, na gojišču MacConkey zraste v brazbarvne kolonije.

Uničenje
Uporabljena gojišča Uricult najlažje uničimo s sežigom ali avtoklaviranjem. Lahko jih tudi dez nog pustimo v primernem dezinfekcijskem sredstvu.

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

Indhold

Uricult	Cat. No. 67404
Dip-slides	10
Patient etiketter	10
Kit insert	1

Princip
Uricult er en tosidet dip-slide, med to forskellige medier til bestemmelse af bakterier, som forårsager urinvejsinfektion. Den ene side er dækket med grøn CLED agar og den anden side med rødbrun MacConkey agar.
CLED agaren bestemmer det totale bakterie antal i urinen. MacConkey agaren tillader vækst af gram-negative bakterier. MacConkey agaren er tilsat galde salte, som forhindrer gram-positive bakterier at vokse, dog kan Enterokokker forekomme som meget små kolonier (pinpoint).

Agar indhold

CLED Agar		MacConkey Agar	
Pepton	10,0 g/L	Pepton	20,0 g/L
Kød ekstrakt	3,0 g/L	Laktose	10,0 g/L
Laktose	10,0 g/L	Neutralrødt	0,075 g/L
L-Cystin	0,13 g/L	Galde salte	0,8 g/L
Bromthymol Blåt	0,03 g/L		

Advarsler og forholdsregler
Kun til ***in vitro* diagnostisk brug.**
Anvend ikke produktet efter den påtrykte udløbsdato på emballagen. Anvend beskyttende tøj og engangshandsker ved håndtering af prøver og test. og vask hænderne grundigt efterfølgende.
Anvend ikke Uricult'en, hvis mediet er misfarvet, udtørret, adskilt fra plastik dip-slideen eller har tydelig bakterie- eller skimmelvækst.
Da enhver bakterievækst på Uricult er eller kan være patogen, må der ikke røres ved bakterievæksten.

Opbevaring
Uricult opbevares ved 7...25°C, beskyttet fra træk og temperatursvingninger. Undgå opbevaring nær varmeafgivende apparater eller i direkte sollys. **Uricult må ikke fryses** eller udsættes for stærk kulde. Udløbsdatoen er trykt på æsken.

Prøvetagning og opbevaring af urinprøven
Urin til bakteriel dyrkning bør have været i blæren i 4 timer forud for opsamling. Urinprøven opsamles enten som midtstråleurin, via kateter eller som aspiration over pubes.
Uricult'en skal dyppes i urinen umiddelbart efter opsamling, hvorefter dip-slideen sættes tilbage i røret, og låget skrues tæt til. Urinen kan opbevares ved 2...8°C i max. 24 timer, før Uricult'en dyppes i prøven.
Testresultatet kan påvirkes, hvis patienten er i anti-infektions behandling. Er patienten i behandling, skal prøven først tages 48 timer efter ophør af medicinering.

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

Note:
1. Negative dyrkninger kan inkuberes i yderligere 24 timer for at sikre at langsomt voksende bakterier påvises.
2. Uricult'en kan inkuberes straks, eller sendes til ett laboratorium for inkubering or vurdering. Opbevaring og transport må ikke overskride 48 timer ved 7...25°C. Herefter inkuberes Uricult'en ved 36±2°C i 16–24 timer, hvis opbevaring og transport har været i optil 48 timer, kan farvereaktionen være atypisk og i dette tilfælde er det kun vækst og kolni antallet, som kan vurderes.
3. Uricult'en kan inkuberes ved stuetemperatur i 1–3 dage, hvorefter positive dyrkninger kan sendes til ett laboratorium for yderligere undersøgelse[1]. Negative dyrkninger kan inkuberes i yderligere 24 timer ved mistanke om langsomt voksende bakterier[2].

Fortolkning af resultater
Efter inkubering af Uricult'en, vil tilstedeværende bakterier vise sig som kolonier på agaroverfladerne. Frodi en koloni er et resultat af multiplikationen af en enkelt bakteriecelle. vil antallet af kolonier indikere koncentrationen af kolon-formige enheder (CFU/mL) i urinprøven. Kolons antallet skal bestemmes på den "optimalelige" granne CLED agar ved at sammenligne kolonitætheden med det billede, som matcher bedst på modelkortet. Det er vigtigt, at det er antallet af kolonier og ikke kolonistørrelsen, der sammenlignes.
Den lave elektrolyt koncentration i CLED agaren forhindrer spredning af Proteus stammer. Bromthymol blåt og laktose i mediet tillader bestemmelsen af laktose-forgærende bakterier. Disse laktose-forgærende stammer vokser som gule kolonier og forandrer agarens grønne farve til gul, hvorimod laktose-negative stammer vokser som transparente kolonier og forårsager ingen ændring af agarens farve.
Den opindelige rødbrune, selektive MacConkey agar understøtter væksten af gram-negative bakterier, men nogea Enterokokker kan vokse som meget små kolonier (pinpoint) på agaren'). Agarens selektivitet er muliggjort ved tilsætning af galde salte. Laktose-positive bakterier vokser som røde kolonier og laktose-negative bakterier som transparente kolonier på agaren.
Hvis bakteriendholdet i urinen er meget højt (≥ 10^7 CFU/mL) kan agaroverfladerne være fuldstændigt dækket af sammenflydende vækst. Dette kan misfortolkes som et negativt resultat. Såfremt en agaroverflade forekommer negativ, bør den aflæses under reflekterende lys; udebliveisen af refleksion indikerer sammenflydende vækst. Meget stærkt lys vil også afsløre små kolonier.
En blanding af forskellige bakteriearter på agaren, skyldes sandsynligvis kontaminering af urinprøven.

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

Prøvetagningsmetode klinisk status	Signifikant kolonitantal (CFU/mL)
Midtstråleurin, stået i blæren < 4 timer, symptomatisk patient	≥ 10^5
Midtstråleurin, stået i blæren > 4 timer	≥ 10^{5-6}
Kateterprøve fra mand	≥ 10^5
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 kliniske signifikante kolonitantall under 10^5 CFU/mL.	

Begrænsninger for metoden
Uricult er i stand til at bestemme bakterie koncentrationer mellem 10^3 og 10^7 CFU/mL. Modelkortet viser nærmesto 10 foldige kolonitælling. Bruges modelkortet rigtigt, viser kolonitallingen 99% korrelation med den konventionelle agarplade metode'.

Produkt egenskaber
Uricult ● CLED medium

Arnell, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121[3].

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

Kvalitetskontrol
I umiddelbar forbindelse af produktionen af Uricult, laves en kvalitets kontrol på hvert lot nr. Ønskes egen kvalitets kontrol, kan følgende procedure anbefales.
1. Lav en 10^5–10^6 bakterier/mL steril saltopløsning med hver af følgende bakterier.
   a. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
   b. *Escherichia coli* ATCC 25922
   c. *Proteus mirabilis* ATCC 12453
2. Dyp Uricult'en i opløsningen, som var det en urinprøve.
3. Inkuber Uricult'en i 16–24 timer og aflæs følgende:
   ***S. aureus* ATCC 25923:** Kun vækst af kolonier på CLED agaren. Det ses af kolonernes gule farve og agarens farve skifter mod gul, at de er laktose-forgærende.
   ***E. coli* ATCC 25922:** Vækst af gule kolonier og et farveskift af CLED agaren mod gul. Vækst af rød-violette kolonier på MacConkey agaren.
   ***P. mirabilis* ATCC 12453:** Vækst af gennemskinnelige kolonier på CLED agaren og et farveskift af denne mod blå. Vækst af farveløse kolonier på MacConkey agaren.

Destruktion
Brugte Uricult dip-slides anbefales destreueret ved forbrænding, autoklavering eller neddypning i et desinfektionsmiddel natten over. Følge lokale regulativer.

Anvendelse
En dyppekultur (dyrkningsmetode) for å påvise bakterier i urin ved diagnostikk av urinveisinfeksjoner.

Innhold

Uricult	Cat. No. 67404
Dyppekulturer	10
Pasientetiketter	10
Bruksanvisning	1

Prinsipp
Uricult dyppekultur består av en liten plastplate med to dyrkningsmedier (agarsider), grønn CLED medium (agar) på den ene siden og rødbrun MacConkey medium (agar) på den andre siden.
På CLED agaren vil alle vanlige urinveispatogener vokse. Mengden bakterier (kvantifisering) vurderes på CLED agaren ved hjelp av avlesningsmal (tolkningsmal). MacConkey agaren er tilsatt gallesalt og er derved selektiv for Gram-negative bakterier, med unntak av enkelte enterokokker som kan vokse med meget små kolonier.

Agar sammensetning

CLED agar		MacConkey agar	
Pepton	10,0 g/l	Pepton	20,0 g/l
Kjøttekstrakt	3,0 g/l	Laktose	10,0 g/l
Laktose	10,0 g/l	Nøytralrødt	0,075 g/l
L-Cystin	0,13 g/l	Gallesalt	0,8 g/l
Bromthymolblått	0,03 g/l		

Advarsler og forholdsregler
Kun til ***in vitro* diagnostikk.**
Anvend ikke produktet etter utløpsdatoen på emballasjen. Bruk beskyttelsesklær og engangshansker ved håndtering av prøver og tester, og vask hrendene godt etterpå.
Anvend ikke Uricult hvis den er misfarvet, inntørket, agaren sitter løst på plastplaten eller det er bakterie- eller soppvekst på agaren.
Da enhver vekst på Uricult skal betraktes som potensielt patogen, må denne ikke berøres.

Oppbevaring
Uricult oppbevares ved 7...25°C beskyttet mot trekk og temperatursvingninger. Unngå oppbevaring nær varmeavgivende apparater eller i direkte sollys. **Uricult må ikke fryses** eller utsettes for sterk kulde. Utløpsdatoen er angitt på esken og på hver enkelt Uricult.

Prøvetaking og oppbevaring av urinprøven
Ideelt bør urin til bakteriell dyrkning ha vært i blæren i 4 timer før prøvetaking. Urinprøven tas som midtstråleprøve, via kateter eller som blærepunksjon.
Dypp Uricult i urinen umiddelbart etter prøvetaking, sett agarsiden tilbake i røret, og skru godt igjen.
Urinen kan oppbevares ved 2...8°C i inntil 24 timer før Uricult dyppes i prøven.
Testresultatet kan påvirkes hvis pasienten er under antibiotika- eller profylaksebehandling. Er pasienten under behandling, skal prøven tas 48 timer etter avsluttet behandling.

Testprosedyre
1. Skru agarsiden ut av plasthylsen uten å berøre agaroverflatene.
2. Dypp og hold agarsiden i godt blandet og usentrifugert urin i 3–5 sekunder, slik at agarflatene blir godt fuktet av urin. La ca ½ cm av den øvre kant være utuket for kontroll ved avlesning. Unngå å helle urin eller bruke pipette. Er det lite urin tar agarsiden (hevet) dyppes, men anmerk (for oksompol på rekvisisjonen) hvor mye av agarsiden som er dyppet i urin.
3. La overflødig urin renne av agarsiden.
4. Fjern de siste dråpene ved å sette endestykket av agarsiden mot et rent, absorberende materiale.
5. Sett agarsiden tilbake i plasthylsen og skru godt igjen.
6. Merk plasthylsen med pasientens navn, fødselsdato og prøvetakingstidspunkt.
7. Plasser Uricult i oppreist stilling i inkubator (35...37°C) i 16–24 timer. Alternativt kan Uricult inkuberes 2–3 dagn i romtemperatur eller sendes direkte til mikrobiologisk laboratorium. Anmerk på rekvisisjonen avvikende oppbevaring eller manglende inkubering.
8. Etter inkubering tas agarsiden ut av plasthylsen for avlesning. Aviles resultatet ved å sammenligne med avlesningsmal/tolkningsmal som følger med kitet eller som kan bestilles hos leveranderen.

Note:
1. Negative dyrkninger kan inkuberes i ytterligere 24 timer for å sikre at langsomtvoksende bakterier påvises.
2. Uricult kan inkuberes straks eller sendes til et mikrobiologisk laboratorium for inkubering og vurdering. Oppbevaring og transport bør ikke overskride 48 timer ved 7...25 °C. Dereffter inkuberes Uricult 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.
3. Uricult kan inkuberes ved romperatur i 1–3 degn. Positive dyrkninger kan derefter sendes til mikrobiologisk laboratorium for ytterligere identifikasjon og resistensbestemmelse[1]. Negative dyrkninger kan inkuberes ytterligere 24 timer ved mistanke om langsomtvoksende bakterier[2].