

Intended use

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

Contents

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Dip slides	10	300
Patient labels	10	300
Instructions for use	1	1

Principle

The Uricult Trio dip slide 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.

Typical formulation

CLED medium	MacConkey medium	E. coli medium
Peptone 10.0 g/l	Peptone 20.0 g/l	Peptone 12.0 g/l
Meat extract 3.0 g/l	Lactose 10.0 g/l	MgSO ₄ 0.1 g/l
Lactose 10.0 g/l	Neutral red 0.075 g/l	MnCl ₂ 0.01 g/l
L-Cystine 0.13 g/l	Bile salts 0.8 g/l	Fe(III) citrate 0.4 g/l
Bromthymol blue 0.03 g/l		Bile salt mixture 2.4 g/l
		8-hydroxyquinoline β -D glucuronide

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. 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.

Storage

Uricult Trio is stored at 7...25°C, protected from air and temperature fluctuations. Avoid draughts and storage near heat-generating appliances. Do not allow to freeze. The expiry date is marked on the box.

Urine sampling and the storage of samples

Ideally, urine for bacterial culture should remain in the bladder for four hours prior to sampling. Samples are usually obtained from clean-voided (mid-stream) urine. Samples for culture may also be obtained by catheterisation or suprapubic bladder aspiration.

The sample should be inoculated onto the Uricult Trio slide immediately after collection. The slide should then 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. Medications (especially antibiotics) may affect the result of the Uricult Trio test. Therefore, the test should not be performed until 48 hours after the final dose of medication.

Test procedure

- Unscrew the slide from the tube without touching the agar surfaces.
- Holding Uricult Trio by the cap, dip the slide into freshly voided mid-stream 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.
- Allow excess urine to drain from the slide.
- Blot the last drops on absorbent paper.
- Screw the slide tightly back into the tube.
- Fill in the patient label and attach it to the tube.
- 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.
- 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:

- Negative cultures may be incubated for additional 24 hours to ensure that slow-growing bacteria are detected.
- 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.
- 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.

Interpretation of results

After incubation of the inoculated slide, the presence of bacteria is evidenced by colonies on the agar surface. Because a colony is the result of the multiplication of a single bacterial cell, the number of colonies indicates the concentration of colony-forming units (CFUs/ml) in the urine sample. The colony count should be determined from the originally green CLED medium by matching the colony density with the model chart it most closely resembles. It is important to compare the number of colonies, not their size.

The low electrolyte concentration of the CLED medium prevents spreading of Proteus strains. Bromthymol blue and lactose in the medium allow the detection of lactose-fermenting bacteria. Such lactose-positive strains grow as yellow colonies and turn the medium yellow, whereas lactose negative strains grow as translucent colonies with no colour change of the medium.

The originally brownish-red, selective MacConkey medium supports the growth of gram-negative bacteria, but even enterococci may grow as pinpoint colonies on the medium⁷. Lactose-positive bacteria grow as red and lactose-negative bacteria as translucent colonies on the medium. β -glucuronidase-producing organisms grow as colonies in various shades of brown or grey on the colourless E. coli medium^{8,9}. β -glucuronidase-negative, gram-negative bacteria grow as translucent colonies on this medium.

When the urinary bacterial content is high ($\geq 10^7$ CFU/ml), the agar surfaces may become totally covered by confluent growth. This can be misinterpreted as a negative result. Therefore, any surfaces that appear negative should be examined under a reflecting light; absence of reflection indicates confluent growth. A bright light also allows very small colonies to be detected.

A mixture of different bacterial strains on the Uricult Trio is most likely due to contamination of the urine sample.

Expected values

The following values are based on the ECLM-EUG European Urinalysis Guidelines (2000).

Method of sampling clinical status	Significant colony count (CFU/ml)
Midstream, bladder time < 4 hours, symptomatic patient	$\geq 10^3$
Midstream, bladder time > 4 hours	$\geq 10^{4-5}$
Catheter sample from man	$\geq 10^3$
Catheter sample from woman	$\geq 10^4$
Nonsymptomatic bacteriuria	$\geq 10^5$
Puncture sample	Any growth

Note: In some cases, bladder urine < 4 hours may express clinically significant colony counts below 10^3 CFU/ml.

Limitations of procedure

Uricult Trio is capable of detecting bacterial concentrations between 10^3 and 10^7 CFU/ml. The model chart allows the determination of colony counts to the nearest power of 10. When the chart is used according to instructions, colony counts show a 99 % correlation with the conventional pour plate method¹.

Performance characteristics**Uricult Trio • CLED medium**

Arnell, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ¹ .		
Number of samples	140	Reference method: Pour plate (Nutrient agar)
Sensitivity	100 %	
Specificity	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

Quality control

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

- Prepare a 10^5 – 10^8 bacteria/ml suspension of each of the following bacteria in sterile saline:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Use the suspensions to inoculate the Uricult Trio dip slides, using the normal procedure.
- Interpret the results after a 16–24 hour incubation as follows:

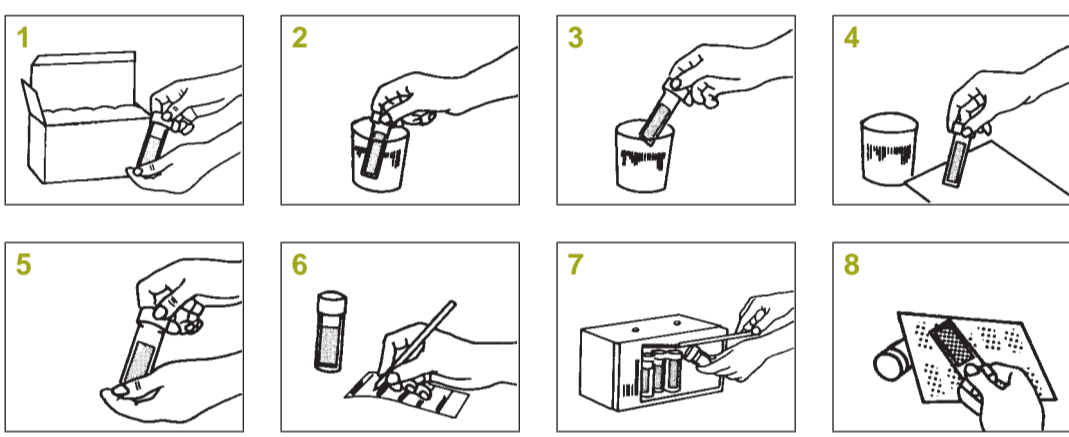
S. aureus ATCC 25923: Growth of colonies on the CLED medium only. Colonies ferment lactose, as indicated by the yellow colour of the medium and the shift towards yellow of the medium.

E. coli ATCC 25922: Growth of yellow colonies with a shift towards yellow of the CLED medium and growth of pink-red colonies on the MacConkey medium. Growth of brown colonies on the E. coli medium.

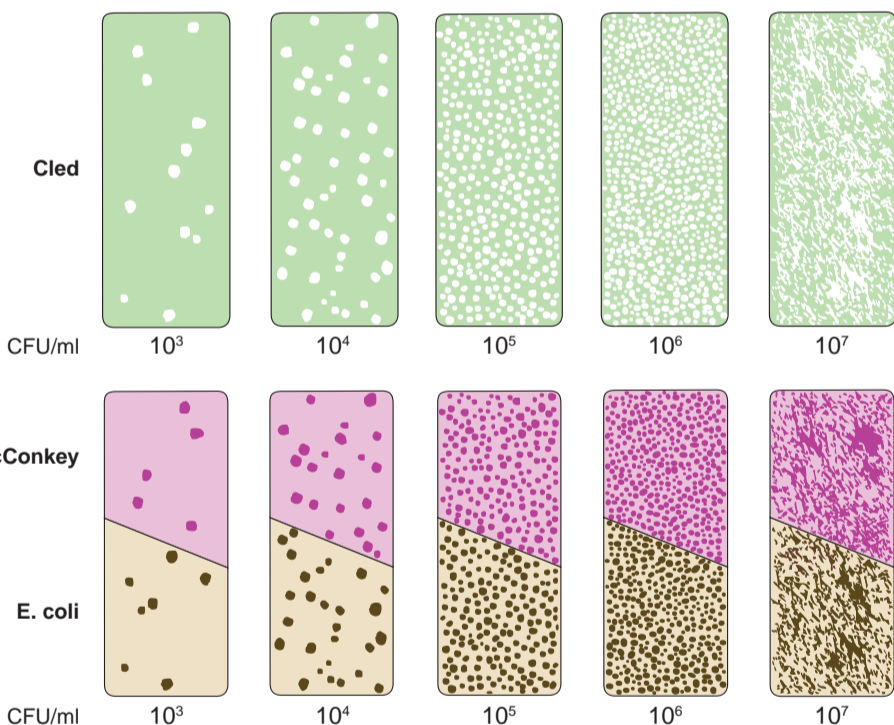
P. mirabilis ATCC 12453: Growth of translucent colonies on the CLED medium, with a possibility of bluish coloration of the medium. Growth of colourless colonies on the MacConkey medium. Growth of colourless colonies on the E. coli medium.

Disposal

Used Uricult Trio dip slides are best disposed of by burning, autoclaving or immersing in a disinfectant overnight, with adherence to local regulations.



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



Literature • Bibliographie • Literatur • Bibliografía • Referências Bibliográficas • Bibliografia • Βιβλιογραφία • Literatura • Referenser • Litteratur • Kirjallisuus

- McAllister TA, Arnell GC, Barr W, Kay P: Assessment of plain dipslide quantitation of bacteriuria. Nephron 11: 111–122, 1973.
- Kass EH: Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. Archives of Internal Medicine 100: 709–714, 1957.
- 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.
- NCCLS Publication M22-A: Quality Assurance Standards for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved standard. Volume 10: 14, 1990.
- Ekman et al.: Streptococci- ja Uricult-levyjen käyttö päivystysaikana. Aesculapius 11–12, 1985.
- Arnell GC: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17: 119–121, 1970.
- Granato PA: Evaluation of a dip slide device for enumeration of bacteria in urine. Laboratory Medicine Vol. 11, No 4: 246–250, 1980.
- Dalet 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.
- 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 • Erläuterung der Symbole • Explicación de los símbolos • Explicação de símbolos • Spiegazione dei simboli • Επεξήγηση των συμβόλων • Vysvětlivky použitých symbolů • Pojasnila simbolov • Forklaring af symboler • Förklaring av symboler • Symbolien selitykset

IVD	REF	LOT	Store at 7...25°C		
For <i>in vitro</i> diagnostic use Diagnostic <i>in vitro</i> In Vitro Diagnostikum Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> Para uso em diagnóstico "in Vitro" Per uso diagnostico <i>in vitro</i> Για διαγνωστική χρήση μόνο Za <i>in vitro</i> diagnostiko Kun til <i>in vitro</i> diagnostikk brug For <i>in vitro</i> diagnostikk För <i>in vitro</i> diagnostik In vitro -diagnostiikkaan	Catalogue number Référéncé Bestell Nr. Número de catálogo Número de catalogo (no) Codice Αριθμός καταλόγου Katalogovné číslo Kataloška številka Varennummer Artikkel nummer Artikelnummer Tuotenumero	Batch code Número de lot Lot. Nr. Número de lote Número de lote Numero di lotto Αριθμός παρτίδας Císlo sarže Serijaska številka Lot nr. Batch nr. Batch nr. Eräkoodi	Storage temperature Conservation Lagertemperatur Conservación Conservação Conservazione Θερμοκρασία φύλαξης Teplotní rozmezí Temperatura sхранjenja Opbevaringstemperatur Oppbevaringstemperatur Förvaringstemperatur Säilytyslämpötila	Use by a utiliser jusqu'à Verwendbar bis Fecha de caducidad Utilizaz até Utilizzare entro/Scadenza Χρησιμοποιήστε έως Použitelné do Uporabno do Anvendes inden Brukes til Används före Käytettävä ennen	Manufacturer Fabricant Hersteller Fabricante Produtor Produttore Κατασκευάζεται από Výrobce Pouzavajalec Producent Tilværkare Valmistaja



Cap • Bouchon • Deckel • Tapón • Tampa
Tappo • Καπάκι • Víčko • Pokrov • Låg
Lock • Kanski



Slide • Lame • Träger • Lámina • Placa
Plastra • Flávka • Destička • Testna ploščica
Slida • Levy



Tube • Röhrchen • Tubo • Cilindro
Συλινδρος • Nädobka • Epruvetka
Rör • Rör • Putki

But du test

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

Contenu du coffret

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Lames immergées	10	300
Étiquettes	10	300
Notice d'utilisation	1	1

Principe

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 empêchent la croissance des bactéries à gram-positif. Cependant, certaines levures peuvent croître sur ce milieu.

Formules

Milieu CLED	Milieu deMacConkey	Milieu E. coli
Peptone 10,0 g/l	Peptone 20,0 g/l	Peptone 12,0 g/l
Extrait de viande 3,0 g/l	Lactose 10,0 g/l	MgSO ₄ 0,1 g/l
Lactose 10,0 g/l	Rouge neutre 0,075 g/l	MnCl ₂ 0,01 g/l
L-Cystine 0,13 g/l	Sels biliaires 0,8 g/l	Fe(III) citrate 0,4 g/l
Bleu de bromothymol 0,03 g/l		Mélange de sels biliaires 2,4 g/l
		8-hydroxyquinoline β-D-glucuronide

Précautions d'emploi

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.

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.

Conservation

Conservé Uricult Trio à +7...+25°C, à l'abri de l'air et des variations de température. Éviter les courants d'air et les sources de chaleur. **Ne pas congeler.**

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.

Mode d'emploi

- 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:

- Des cultures négatives peuvent être incubées 24 heures supplémentaires pour détecter des bactéries à croissance lente.
- 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.

Uricult® Trio

Anwendungsgebiet

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

Inhalt

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Eintauchnährmediumträger	10	300
Patientenetiketten	10	300
Gebrauchsanweisung	1	1

Prinzip

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.

Typische Formulierung

CLED-Nährmedium	MacConkey-Nährmedium	Nährmedium für E. coli
Pepton 10,0 g/l	Pepton 20,0 g/l	Pepton 12,0 g/l
Fleischextrakt 3,0 g/l	Lactose 10,0 g/l	MgSO ₄ 0,1 g/l
Lactose 10,0 g/l	Neutrairit 0,075 g/l	MnCl ₂ 0,01 g/l
L-Cystine 0,13 g/l	Gallensalze 0,8 g/l	Fe(III) citrate 0,4 g/l
Bromthymolblau 0,03 g/l		Gallensalzmischung 2,4 g/l
		8-Hydroxychinitin-β-D-glucuronid

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

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.

Uricult Trio darf bei Nachweis einer Verfärbung 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.

Lagerung

Uricult Trio bei 7...25°C vor Luft und Temperaturschwankungen geschützt lagern. Zugluft und die Lagerung in der Nähe von wärmeerzeugenden Geräten vermeiden. NICHT EINFRIEREN! Das Verfalldatum ("Verw. bis") ist auf der Packung angegeben.

Gewinnung von Harnproben und Lagerung der Proben

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 Harnprobe 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.

Testdurchführung

- Ohne Berühren der Agarschichten die Verschlusskappe mit dem daran befestigten Nährmediumträger abschrauben.
- Den an der Verschlusskappe befestigten Uricult Trio -Nährmediumträger in den frisch gelassenen Mittelstrahlurin 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:

- Negative Kulturen können zur Gewährleistung, dass auch der Nachweis langsam wachsender Bakterien erfolgt, weitere 24 Stunden bebrütet 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 Nähr-

Interpretation 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.

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 patient symptomatique	≥ 10 ³
Milieu de jet, temps vésical > 4 heures	≥ 10 ⁴⁻⁵
Prélèvement par sondage chez l'homme	≥ 10 ³
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.

Limites du test

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 Pétri⁷.

Performances

Uricult Trio • CLED medium

Arnel, G.C. 1970: Détection de la bactériurie à température ambiante. Lancet, 17 Janvier, pages 119–121 ⁶ .		
Nombre d'échantillons	140	Méthode de référence: Gélose Nutritionnelle
Sensibilité	100 %	
Spécificité	99 %	
VPP	98 %	
VPN	100 %	

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.
- Interpréter les résultats après une incubation de 16 à 24 heures.
 - Staphylococcus aureus ATCC 25923:** Croissance des colonies sur CLED seulement. Les colonies fermentent le lactose comme l'indique leur couleur jaune et la tendance à jaunir le milieu CLED.
 - Escherichia coli ATCC 25922:** Croissance de colonies jaunes avec tendance à jaunir le milieu CLED et croissance de colonies roses-rouges sur le milieu MacConkey. Croissance de colonies brunes sur le milieu E. coli.
 - Proteus mirabilis ATCC 12453:** Croissance de colonies translucides avec une tendance à bleuir le milieu CLED, et croissance de colonies incolores sur le milieu MacConkey. Aucune croissance sur le milieu Entérocoques.

Destruction

Les lames Uricult Trio utilisées doivent être éliminées, soit en les incinérant, soit par passage à l'autoclave ou par immersion dans du désinfectant pendant une nuit.

Gebrauchsanweisung • Deutsch

mediumträger 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 werden⁶. Zum Nachweis langsam wachsender Bakterien empfiehlt sich die Bebrütung negativer Kulturen für weitere 24 Stunden⁶.

Interpretation der Ergebnisse

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 Harnprobe 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 führt sehr wahrscheinlich auf die Verunreinigung der Harnprobe zurückzuführen.

Erwartete Werte

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

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

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

Grenzen des Verfahrens

Uricult Trio ist zum Nachweis von Bakterienkonzentrationen zwischen 10³ und 10⁷ CFU/ml fähig. Die Standardbildkarte ermöglicht die Ermittlung der Kolonienzahlen 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 auf⁷.

Leistungsmerkmale

Uricult Trio • CLED-Nährmedium

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

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 24-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 farbiger Kolonien auf dem Nährmedium für E. coli.

Entsorgung

Gebrauchte Uricult Trio -Eintauchnährmediumträger werden unter Beachtung lokaler Bestimmungen am besten durch Verbrennen, Autoklavieren oder Einlegen über Nacht in Desinfektionsmittel entsorgt.

Uricult® Trio

Uso recomendado

Uricult Trio es un laminocultivo para el diagnóstico de infecciones en el tracto urinario por detección de bacterias en orina.

Contenido

Laminocultivos	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Laminocultivos	10	300
Etiquetas adhesivas	10	300
Instrucciones de uso	1	1

Principio de la prueba

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 incoloro. 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 proliferan en colonias en forma de pequeños puntos. El medio selectivo para E. coli es especialmente indicado para detectar organismos gram-negativos productores de β-glucuronidasa que crecen en forma de colonias de varias tonalidades de marrón o gris. Escherichia coli es el más común de los organismos productores de β-glucuronidasa que se encuentran en las infecciones del tracto urinario. Los sales biliares que incorpora este medio evita el crecimiento de organismos gram-positivos. Algunas levaduras pueden crecer en el medio E. coli.

Instrucciones de uso • Español

Fórmula típica

Medio CLED	Medio MacConkey	Medio E. coli
Peptona 10,0 g/l	Peptona 20,0 g/l	Peptona 12,0 g/l
Extrato de carne 3,0 g/l	Lactosa 10,0 g/l	MgSO ₄ 0,1 g/l
Lactosa 10,0 g/l	Rojo neutro 0,075 g/l	MnCl ₂ 0,01 g/l
L-Cistina 0,13 g/l	Sales biliares 0,8 g/l	Citrato Fe(III) 0,4 g/l
Azul de bromotimol 0,03 g/l		Mélange de sels biliaires 2,4 g/l
		8-hydroxyquinoline β-D glucorinide

Advertencias y precauciones

Uricult Trio está destinado únicamente para el **uso diagnóstico in vitro**. No utilizar este producto después de la fecha de caducidad indicada en la caja.

Español...

Recogida de las muestras de orina y su almacenamiento

Lo ideal es que la orina destinada al cultivo bacteriano permanezca cuatro 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.

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 del test

- 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:

- Los cultivos negativos pueden incubarse otras 24 horas para detectar 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 estudio³. Los cultivos negativos pueden incubarse durante 24 horas más para detectar bacterias de crecimiento lento⁴.

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.

La baja concentración de electrolitos del medio CLED evita la difusión de 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 puntos⁷. 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 incoloro de E. coli. Los organismos β-glucuronidasa negativos, gram-negativos crecen como colonias translúcidas en este medio.

Uricult® Trio

Instruções de Uso • Português

Indicação

Meio de cultura em laminocultivo para a detecção de bacteriúria.

Conteúdo do conjunto

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Laminocultivos	10	300
Etiquetas adesivas	10	300
Instruções para uso	1	1

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 colonias 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 colonias 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.

Fórmula típica

Meio CLED	Meio MacConkey	Meio E. coli
Peptona 10,0 g/l	Peptona 20,0 g/l	Peptona 12,0 g/l
Extracto de carne 3,0 g/l	Lactose 10,0 g/l	MgSO ₄ 0,1 g/l
Lactose 10,0 g/l	Vermelho neutro 0,075 g/l	MnCl ₂ 0,01 g/l
L-Cystine 0,13 g/l	Sais biliares 0,8 g/l	Fe(III) citrate 0,4 g/l
Azul de bromotimol 0,03 g/l		Sais biliares 2,4 g/l
		8-hydroxyquinoline β-D glucuronide

Cuidados 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.

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 colonias em Uricult Trio pode ser efetivo ou potencialmente patogénico, não tocar com as mãos.

Armazenamento

Uricult Trio deve ser armazenado entre 7...25°C, protegido de variações ambientais e de temperatura. Evitar as correntes de ar e não guardar junto a fontes de calor. **Não congelar**. O prazo de validade está indicado na embalagem.

Coleta 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 absorbente.
- 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 colônias (CFU/ml), retirar o laminocultivo do tubo e comparar a densidade de colônias com a tabela comparativa incluída na embalagem.

Nota:

- Culturas negativas podem ser incubadas por mais 24 horas para detecção de bacterias de crescimento lento.
- 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 transcurrido 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 colônias, pois a reação de cor pode ser atípica.

Uricult® Trio

Istruzioni per l'uso • Italiano

Scopo

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

Contenuto

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Dip-slide	10	300
Etichette identificative	10	300
Istruzioni per l'uso	1	1

Principio

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 incoloro.

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. E. 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.

Formulazione tipica

CLED medium	MacConkey medium	E. coli medium
Peptone 10,0 g/l	Peptone 20,0 g/l	Peptone 12,0 g/l
Esttrato di carne 3,0 g/l	Lattosio 10,0 g/l	MgSO ₄ 0,1 g/l
Lattosio 10,0 g/l	Neutro 0,075 g/l	MnCl ₂ 0,01 g/l
L-Cystine 0,13 g/l	Sali bilari 0,8 g/l	Fe(III) citrate 0,4 g/l
Blu di bromotimolo 0,03 g/l		Miscela di sali di bile 2,4 g/l
		8-idrossiquinoline β-D-glucuronide

Avvertenze e precauzioni

Uricult Trio è un test per uso diagnostico *in vitro*.

Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza indicata sulla confezione.

Non utilizzare Uricult Trio in caso di scolorimento o disidratazione dell'agar, di distaccamento dell'agar dal supporto di plastica o se si osserva crescita di funghi e/o batteri prima del suo uso.

Non toccare le colonie cresciute sull'agar poiché tutte le colonie che crescono su Uricult Trio sono potenzialmente patogene.

Conservazione

Uricult Trio deve essere conservato a 7...25°C, protetto dall'aria e da eccessive variazioni di temperatura. Evitare correnti d'aria e la conservazione vicino a fonti di calore. **Il prodotto non deve essere congelato**. La data di scadenza è indicata sulla confezione.

Camionamento e conservazione dei campioni di urina

Idealmente l'urina da utilizzare per le colture batteriche dovrebbe essere raccolta quattro ore dopo l'ultima minzione. I campioni di urina sono generalmente raccolti da minzione (minzione intermedia), ma possono essere ottenuti anche da cateterizzazione 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 provettono 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.

Quando il contenuto batteriano in la orina es alto (≥ 10⁷ 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.

Valores teóricos

Los siguientes valores están basados en la ECLM-EUG Directiva Europea sobre Urianálisis (2000).

Método de recogida de la muestra, estado clínico	Recuento significativo de colonias (CFU/ml)
Micción, permanencia en la vejiga < 4 horas, paciente sintomático	≥ 10 ³
Micción, 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 inferiores a 10³ CFU/ml con significación clínica.

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.

Características de la prueba

Uricult Trio • Medio CLED

Arneil, G.C. 1970: Detección de bacteriuria a temperatura ambiente. <i>Lancet</i> , 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%	

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 10³–10⁶ 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 16–24 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.

Eliminación

La mejor forma de eliminar los laminocultivos Uricult Trio usados es mediante cremación, autoclave o inmersión en desinfectante durante toda la noche, de acuerdo a las normativas locales.

- 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 estudo⁵ posterior. As culturas negativas podem ser incubadas por mais 24 horas para detecção de bacterias de crescimento lento⁶.

Interpretação dos resultados

Após a incubação do laminocultivo inoculado, a presença de bacterias é detectada pelo surgimento de colonias sobre a superficie de agar. Como uma colônia é o resultado da multiplicação de uma única célula bacteriana, o número de colonias indica a concentração de unidades que formam colonias (CFUs/ml) na amostra de urina. A contagem de colônias deverá ser determinada no meio CLED originalmente de cor verde, comparando a densidade das colônias com o modelo de comparação mais semelhante. É importante comparar o número de colônias 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 bacterias que fermentam a lactose. Estas espécies positivas em lactose crescem como colônias amarelas e fazem com que o meio de cultura adquira esta cor, enquanto que as espécies negativas em lactose crescem como colônias transparentes e não produzem nenhuma alteração de cor no meio.

O meio MacConkey seletivo e originalmente de cor avermelhada é adequado para o crescimento de bacterias gram-negativas, mas neste meio também podem crescer enterococos como colônias em forma de pontos⁷. Os sais biliares tornam possível a seletividade. Neste meio, as bacterias positivas em lactose multiplicam-se como colônias de cor vermelha e as negativas como colônias transparentes.

Quando o conteúdo bacteriano na urina é alto (≥ 10⁷ 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 colônias muito pequenas. Uma mistura de diferentes espécies bacterianas em Uricult refere-se provavelmente a uma contaminação da amostra de urina.

Valores teóricos

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

Método de coleta da amostra, estado clínico	Contagem significativa de colônias (CFU/ml)
Jato médio, permanência na bexiga < 4 horas, doente sintomático	≥ 10 ³
Jato 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 assintomática	≥ 10 ⁵
Amostra mediante punção	qualquer crescimento

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

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 colônias a potencia mais próxima 10. Quando o modelo é utilizado conforme as instruções, as contagens de colônias apresentam uma correlação de 99% com o método convencional de placa de cultura¹.

Características do Teste

Uricult Trio • Meio CLED

Arneil GC. 1970: Deteção de bacteriúria à temperatura ambiente. <i>Lancet</i> , Janeiro 17, págs.119–121 ⁶ .		
Número de amostras	140	Método de referência: placa de cultura
Sensibilidade	100%	
Especificidade	99%	
PPV	98%	
NPV	100%	

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 10³–10⁶ bacterias/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 16–24 horas de incubação do seguinte modo:

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

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

P. mirabilis ATCC 12453: Crecimento de colônias transparentes com uma alteração de coloração para azul do meio CLED e proliferação de colônias incoloras no meio MacConkey.

Eliminação do material contaminado

As melhores formas de eliminar o laminocultivo Uricult Trio após o uso, são a cremação, autoclavagem ou imersão em desinfectante durante toda a noite.

Procedimento del test

- 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.
- Tampinare 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.
- 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:

- Le colture negative possono essere incubate per ulteriori 24 ore per rilevare la crescita di eventuali 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 indagini⁵. Le colture negative possono essere incubate per ulteriori 24 ore per rilevare la crescita di eventuali batteri a crescita lenta.

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. È 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"⁷. 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 incoloro. 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 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 bassa concentrazione sull'Uricult Trio di diversi ceppi batterici, è molto spesso dovuta alla contaminazione del campione di urina.

Namen

Ploščna gojišča Uricult Trio so namenjena za diagnozo uroinfekcij.

Vsebina

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Ploščnih gojišč	10	300
Nalepk za vpis pacientovih podatkov	10	300
Navodila za uporabo	1	1

Princip

Osnova testa Uricult Trio so tri agarška gojišča. Ena stran plastične ploščice 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 preprečijo 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-glukuronidazo producirajoči organizem prisoten v urinarnem traktu. Žolčne soli v gojišču E. coli preprečujejo rast gram-pozitivnih organizmov. Določene kvasovke lahko zrastejo na gojišču E. coli.

Sestava gojišč

Gojišče CLED	Gojišče MacConkey	Gojišče E. coli			
Pepton	10,0 g/l	Pepton	20,0 g/l	Pepton	12,0 g/l
Mesni ekstrakt	3,0 g/l	Laktosa	10,0 g/l	MgSO ₄	0,1 g/l
Laktosa	10,0 g/l	Neutralno rdeče	0,075 g/l	MnCl ₂	0,01 g/l
L-Cistein	0,13 g/l	Soli žolčnih kislin	0,8 g/l	Fe(III) citrat	0,4 g/l
Bromtimol modro	0,03 g/l	Žolčnih kislin		Soli žolčnih kislin	2,4 g/l
				8-hidroksiquinolin β-D-glukuronid	

Opozorila in previdnostni ukrepi

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

Testov ne uporabljajte po pretečenem datumu uporabnosti, označenem na embalaži.

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!

Shranjevanje

Gojišča Uricult Trio hranite pri temperaturi 7...25°C v prostoru, kjer ni prepiha ali večjih temperaturnih nihanj. Testov ne 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 preprežanjem 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.

Ce razmere ne dopuščajo takojšnje inokulacije, moramo vzorec urina OB-VEZNO 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 ploščno 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 pokrovček.
- 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 kolonij z referenčno tabelo v navodilih.

Opomba

- Gojišča, na katerih ni zaznavne rasti, lahko inkubiramo še dodatnih 24 ur za detekcijo počasi rastočih bakterij.
- Inokulirano gojišče inkubiramo takoj ali pa ga shranimo oz. prenesemo v laboratorij, kjer sledi inkubacija in interpretacija rezultatov. Hranjenje oz. transport naj ne presega 48 ur pri 7...25°C. Nato je potrebna 16–24-urna inkubacija Uriculta Trio pri 36±2°C. Pri hranjenju oz. transportu 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.

Uricult® Trio

			
---------------	---------------	---------------	---------------

			
---------------	---------------	---------------	---------------

Pátænk&t anvendelse

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

Indhold

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Dip-slides	10	300
Patient etiketter	10	300
Kit insert	1	1

Princip

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 rødbrunligt MacConkey medium og et farveløst E. coli medium. CLED mediet er beregnet til at påvise det totale bakterieantal. MacConkey mediet er beregnet til at påvise gram-negative mikroorganismer. Dette medium indeholder galdesalte, som forhindrer væksten af gram-positive mikroorganismer dog undtaget enterokokker, der vokser som pinpoint kolonier. E. coli mediet er især beregnet til at påvise gram-negative, β-glucuronidase-producerende mikroorganismer, der vokser som kolonier i varierende brunlige og grålige nuancer. Escherichia coli er den mest almindelige forekommende β-glucuronidase-producerende mikroorganisme i urinvejsinfektioner. E. coli mediet indeholder galdesalte, som forhindrer væksten af gram-positive mikroorganismer. Enkelte gærarter kan dog vokse på E. coli mediet.

Agar indhold

CLED medium	MacConkey medium	E. coli medium			
Pepton	10,0 g/L	Pepton	20,0 g/L	Pepton	12,0 g/L
Kød ekstrakt	3,0 g/L	Laktose	10,0 g/L	MgSO ₄	0,1 g/L
Laktose	10,0 g/L	Neutralrødt	0,075 g/L	MnCl ₂	0,01 g/L
L-Cystin	0,13 g/L	Galde	0,8 g/L	Fe(III) citrate	0,4 g/L
Bromthymol-blåt	0,03 g/L	salte		Galde salte	2,4 g/L
				8-hydroxyquinolin β-D-glucoronid	

Advarsler og forholdsregler

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

Det anbefales ikke at anvende produktet efter udløbsdatoen trykt på emballagen.

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.

Opbevaring

Uricult Trio skal opbevares ved 7...25°C, beskyttet for luft- og tempera- tur svingninger. Undgå træk og opbevaring nær varmeafgivende udstyr. **Uricult Trio må ikke fryses.** Udløbsdatoen er trykt på emballagen.

Prøvetagning og opbevaring af prøver

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

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

Test procedure

- Skru sliden ud af plastikrøret uden at røre agaroverfladerne.
- Hold Uricult Trio dip-sliden i låget, dyp sliden i midstrålekinprøven, så at agaroverfladerne bliver tåligt neddypet. Ved utilstrækkelig urin-mængde kan dip-sliden holdes vandret og urinen tilsættes på den opadvendte agaroverflade. Derefter vugges dip-sliden forsigtigt, indtil hele overfladen er blevet fugtet fuldstændigt med urin. Samme procedure gentages på den anden side af dip-sliden.
- Lad overskudsurinen løbe omhyggeligt af sliden ved at placere den nederste kant af dip-sliden på kanten af urinbøgeret.
- De sidste dråber urin afdrypes 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 plastikrøret og sammenligne kolonitætheden med modelkortet vedlagt kittet.

Note:

- Negative dyrkninger kan inkuberes i yderligere 24 timer for at sikre at langsomt voksende bakterier påvises.
- Inokuleret slide kan inkuberes straks, opbevares eller transporteres til et laboratorium for inkubation og vurdering. Opbevaring eller transporter- ing 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 undersøgelse6. Negative dyrkninger kan blive inkuberet i yderligere 24 timer for at påvise langsomt voksende bakterier6.

Uricult® Trio

			
---------------	---------------	---------------	---------------

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

Innhold

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Dyppekulturer	10	300
Pasientetiketter	10	300
Bruksanvisning	1	1

Prinsipp

Uricult Trio dyppekultur består av en liten plastplate med tre dyrkningsmedier (agarside). En side av plastplaten er dekket med grønn CLED medium (agar) og den andre med rødbrun MacConkey medium (agar) samt en fargeløs E. coli agar. På CLED agaren vil alle vanlige urinveispatogener. Mengden bakterier (kvantitativt) vurderes på CLED agaren ved hjelp av avlesningsmal (tolkningsmal). MacConkey agaren er tilsatt 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 nyanser av brunt eller grått. E. coli er den vanligst forekommende β-glucuronidase produserende bakterie som forekommer ved urinvejsinfeksjoner. Gallsalter i E. coli mediet hindrer vekst av gram-positive bakterier. Visse gjæsesopper kan likevel vokse på E. coli mediet.

Agar sammensetning

CLED agar	MacConkey agar	E. coli agar			
Pepton	10,0 g/l	Pepton	20,0 g/l	Pepton	12,0 g/l
Kjøtt ekstrakt	3,0 g/l	Laktose	10,0 g/l	MgSO ₄	0,1 g/l
Laktose	10,0 g/l	Nøytral-rødt	0,075 g/l	MnCl ₂	0,01 g/l
L-Cystin	0,13 g/l	Gallsalt	0,8 g/l	Fe(III) citrate	0,4 g/l
Bromthymol-blått	0,03 g/l			Gallsalt	2,4 g/l
				8-hydroxyquinoline beta-D-glucuronide	

Advarsler og forholdsregler

Kun til **in vitro diagnostikk**.

Anvend ikke produktet etter utløpsdatoen på emballasjen.

Anvend ikke Uricult Trio hvis den er misfarvet, inntørket, agaren sitter løst på plastplaten eller det er bakterie- eller soppvekst på agaren. Da enhver vekst på Uricult Trio skal betraktes som potensiell patogen, må denne ikke berøres.

Oppbevaring

Uricult Trio oppbevares ved 7...25°C beskyttet mot trekk og temperatur-svingninger. Unngå oppbevaring nær varmeavgivende apparater eller i direkte sollys. Uricult Trio må ikke fryses eller settes for sterk kulde. Utløpsdatoen er angitt på esken og på hver enkelt Uricult Trio.

Interpretacija rezultatov

Kolonije, ki nastanejo 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 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 elektrolitov v gojišču CLED preprečuje rojenje sevov rodu Proteus. Detekcijo bakterij, ki so sposobne fermentirati laktozo, omogoča bromtimol modro in laktosa. Laktosa-pozitivne seve tako razpoznamo po rumenih kolonijah. Rast spremlja tudi sprememba barve gojišča v okolici, ki postane srednje rumene barve. Laktosa-negativni sevi imajo v nasprotju s tem prozorne kolonije in ne povzročajo sprememb v barvi gojišča.

SelektivniznačajgojiščMacConkeyjeposledicaprিসotnostižolčnihkislin. Rdečerjavo selektivno gojišče MacConkey omogoča rast le gram-negativnim bakterijam, vendar lahko zrastejo tudi enterokoki, ki jih razpoznamo po zelo drobnih kolonijah. Laktosa-pozitivne bakterije zrastejo v rdeče, laktosa-negativne pa v prozorne kolonije. β-glukuronidazo producirajoči organizmi, ki zrastejo na brezbarvnem gojišču E. coli, oblikujejo rjave do sive kolonije8,9. β-glukuronidazo negativne, gram-negativne bakterije pa zrastejo v prozorne kolonije. Kadar je v urinu veliko število bakterij (≥ 10⁷ CFU/ml), se pojavi prekrivajoča rast po celotni površini gojišča. Takšno rast lahko napačno interpretiramo kot negativen rezultat. Zato je potrebno vsako gojišče, na katerem sicer ni opazne rasti, dodatno preveriti pod močno svetlobo; odsotnost odboja 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.

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
Katetrski vzorec (moški)	≥ 10 ³
Katetrski vzorec (ženske)	≥ 10 ⁴
Asimptomatska bakterijurija	≥ 10 ⁵
Subrapubicna punkcija	kakršna koli rast

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

Omejitve postopka

Uricult Trio zazna koncentracijo bakterij v mejah od 10³ do 10⁷ CFU/ml. Referenčna tabela omogoča določitev števila bakterij na potenco števila 10 natančno. Korelacija med določljivjo številu kolonij s pomočjo referenčne tabele na eni in konvencionalno metodo¹ (Sanford) na drugi strani je 99 % (ob upoštevanju naptokov za uporabo referenčne tabele).

Značilnosti testa

Uricult Trio • Gojišče CLED

Arnell, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
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 številki testov Uricult Trio. Kontrolo kvalitete testa lahko izvede tudi končni porabnik v laboratoriju. Priporočamo naslednji postopek:

- Pripravnimo suspenzije bakterij v sterilni fiziološki raztopini. Vsak od sledečih sevov naj bo v koncentraciji 10⁸–10⁶ bakterij/ml.
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Suspenzije inokuliramo po običajnem postopku na gojišča Uricult Trio.
- 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 rozardeče kolonije. Na gojišču E. coli zrastejo rjave kolonije.
 - P. mirabilis ATCC 12453:** Na gojišču CLED zraste v prozorne kolonije, gojišče se obarva modro; na gojišču MacConkey zraste v brez-barvne kolonije. Na gojišču E. coli zrastejo prozorne kolonije.

Uničenje

Uporabljena gojišča Uricult Trio najlažje uničimo s sežigom ali avtoklaviranjem. Lahko jih tudi čez noč pustimo v primerernem dezinfekcijskem sredstvu.

Brugsvejledning • Dansk

			
---------------	---------------	---------------	---------------

			
---------------	---------------	---------------	---------------

Fortolkning af resultater
Efter inkubering af den inokuleret slide, vil tilstedeværelsen af bakterier være påviset 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. Kolonialtallet skal bestemmes på det originale grønne CLED medium, ved at sammenligne kolonitætheden med det billede på modelkortet det ligner mest. Det er vigtigt at sammenligne antallet af kolonier, ikke deres størrelse.

Den lave elektrolyt koncentration på CLED mediet forhindrer spredningen af Proteus stammer. Bromthymolblåt og laktose i mediet hjælper til påvisning af laktose-forgærende bakterier. Sådanne laktose-forgærende stammer vokser som gule kolonier og ændrer farven af mediet til gul, hvorimod ikke laktose-forgærende stammer vokser som gennem-sigtige kolonier med ingen farveændring af mediet. Det originale rød-brunlige, selektive MacConkey medium støtter væksten af gram-negative bakterier, men dog kan enterokokker vokse som pinpoint kolonier på mediet⁷. Laktose-forgærende bakterier vokser som røde og ikke laktose-forgærende bakterier som gennemsigtige kolonier på mediet. β-glucuronidase-producerende organismer vokser som kolonier i varierende brunlige og grålige nuancer på det farveløse E. coli medium8,9. β-glucoronidase-negative, gram-negative bakterier vokser som gennemsigtige 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 negativt resultat. Derfor skal enhver overflade som synes negativ aflæses under reflekterende lys; manglende refleksion ved aflæsning kan medføre at sammenflydende vækst overses. En godt lys hjælper også til at påvise meget små kolonier.

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

Forventede værdier

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

Prøvetagningsmetode klinisk status	Signifikant koloniantal (CFU/mL)
Midstråleurin, stået i blæren < 4 timer, symptomatisk patient	≥ 10 ³
Midstråleurin, stået i blæren > 4 timer	≥ 10 ⁴⁻⁵
Kateterprøve fra mand	≥ 10 ³
Kateterprøve fra kvinde	≥ 10 ⁴
Asymptomatisk bakterieuri	≥ 10 ⁵
Blære aspiration prøve	Al vækst

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

Begrænsninger for metoden

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

Produkt egenskaber

Prøvetagningsmetode klinisk status	Signifikant koloniantal (CFU/mL)
Midstråleurin, stået i blæren < 4 timer, symptomatisk patient	≥ 10 ³
Midstråleurin, stået i blæren > 4 timer	≥ 10 ⁴⁻⁵
Kateterprøve fra mand	≥ 10 ³
Kateterprøve fra kvinde	≥ 10 ⁴
Asymptomatisk bakterieuri	≥ 10 ⁵
Blære aspiration prøve	Al vækst

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

Begrænsninger for metoden

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

Produkt egenskaber

Prøvetagningsmetode klin

Norsk...

Tolkning

Etter inkubering av Uricult Trio vil tilstedeværende bakterier vises som kolonier på agaroverflaten. Da en koloni er et resultat av multiplikasjon (oppforming) av en enkelt bakteriecelle, vil antall kolonier indikere konsentrasjonen av antall bakterier (colony-forming units=CFU/mL) i urinprøven. Koloniantallet bestemmes på CLED agaren (den gule/grønne siden) ved å sammenligne kolonitetheten 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 agaren?. Tilsetting 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 gråt^{8,9}. β-glucuronidase-negative, gram-negative bakterier vokser med gjennomskinnelige/fargeløse kolonier på dette mediet. Hvis bakterieinnholdet i urinen er meget høyt (≥10⁷ CFU/mL) kan agaroverflaten være fullstendig dekket av sammenflytende (konfluente) 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 fuktet av urin. (Se Testprosedyre pkt 2).

En blanding av forskjellige bakteriearter på Uricult Trio skyldes sannsynligvis forurensning av urinprøven.

Svarrapportering

Vurder først om det er blandingsflora eller renkultur. Blandingsflora skyldes ofte forurensning 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 oppvekst 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.

Uricult® Trio	Metodbeskrivelse	Svenska
---------------	------------------	---------

Avsedd anvendning

En dipslide (odlingsmetod) for ått diagnostisera urinvágsinfektioner genom ått pávisa mikrober i urinen.

Innehåll

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Dipslide	10	300
Etiketter for patient ID	10	300
Metodbeskrivning	1	1

Princip

Uricult Trio systemet baseras på tre agarmedia. En sida av plastsliden är täckt med grön CLED-agar och den andra med både rödbrunfärgad MacConkey-agar och en färglös E. coli -agar. CLED-agarmediet är avsett för att bestämma totala bakteriekoncentrationen. 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 varierande nyanser av brunt eller grått. Escherichia coli är den vanligast förekommande β-glucuronidase-produserande mikroben som påträffas vid urinvágsinfektioner. Gallsalter i E. coli-mediet hindrar växt av grampositiva mikrober. Vissa jästsvampar kan dock växa på E. Coli -mediet.

Sammansättning

CLED medium	MacConkey medium	E. coli medium			
Pepton	10.0 g/L	Pepton	20.0 g/L	Pepton	12.0 g/L
Buljong-extrakt	3.0 g/L	Laktos	10.0 g/L	MgSO ₄	0.1 g/L
Laktos	10.0 g/L	Neutral		MnCl ₂	0.01 g/L
L-Cystine	0.13 g/L	röd	0.075 g/L	Fe(III)citrat	0.4 g/L
Bromtymol blått	0.03 g/L	Gallsalter	0.8 g/L	Gallsalter	2.4 g/L
				8-hydrokvikinolini-beta-D-glucuronide	

Att tänka på

Endast för *in vitro* diagnostik.

Använd ej produkten efter utgångsdatum. Datum finns tryckt på ytterförpackningen: Expiry date.

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.

Förvaring

Uricult förvaras i 7...25°C, skyddat från luft- och temperaturvariationer. Undvik drag och förvaring nära värmealstrande apparatur. **Får ej frysas.** Utgångsdatum (Expiry date) finns tryckt på förpackningen.

Provtagning och förvaring av prover

Idealliskt är att urinen står i blåsan fyra timmar innan provtagning. Urinprovet tas som ett mittstråleprov, via kateter* eller blåspunktion. (*I Sverige är kateterprovet inte rekommenderat.

Provet ska inokuleras på Uricult Trio sliden omedelbart efter provtagning. Sliden sätts sedan tillbaka i sitt rör och korken skruvas åt ordentligt. Om provet inte kan inokuleras 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 avslut medicinerig.

Testprosedur

- Skruva sliden ur röret. Undvik att röra vid agarytorna.
- Håll i Uricult Trios 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 ytorna***. (Sverige: **Doppa endast 2/3 av agarytorna och använd den övre 1/3 som referenzson vid avläsningen. ***Tänk på att även här spara 1/3 av ytan som referenzson.)
- 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 tolkningsmall som medföljer förpackningen.

Notera:

- Negativa odlingar kan inkeras i ytterligare 24 timmar för att påvisa långsamt växande bakterier.
- Den inokulerade sliden kan inkeras omedelbart eller förvaras och transporterar till ett laboratorium för inkubering och bedömning. Förvaring och transport ska inte överstiga 48 timmar i 7...25°C, efter vilken sliden ska inkeras 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 inokulerad slide kan inkeras i rumtemperatur under 1–3 dygn och då positiva odlingar kan skickas till specialiserat laboratorium för vidare bedömning⁵. Negativa odlingar kan inkeras i ytterligare 24 timmar för detektion av långsamt växande bakterier⁶.

Uricult® Trio	Metodbeskrivelse	Suomi
---------------	------------------	-------

Käyttö

Virtsatieinfektion diagnosiin liittyvä, viljelyyn perustuva kastolevymenetelmä mikrobien osoittamiseen virtsasta.

Sisältö

Uricult Trio	Cat. No. 68197	Cat. No. 68300
Kastolevyt	10	300
Näytetarrat	10	300
Käyttöohje	1	1

Periaate

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 mikrobien kokonaismäärä. MacConkey-elatusaine on tarkoitettu gram-negatiivisten mikrobien toteamiseen. Elatusaineeseen lisätty sappisuola estää gram-positiivisten mikrobien kasvu, lukuunottamatta enterokokkeja, jotka saattavat kasvaa pieninä pesäkkeinä. E. coli -elatusaine on tarkoitettu erityisesti gram-negatiivisten β-glucuronidaasia tuottavien mikrobien toteamiseen, jotka kasvavat sillä ruskean-harmaan eri sävyisinä pesäkkeinä. Virtsatieinfektioiden yhteydessä E. coli on yleisin β-glucuronidaasia tuottava mikrobi. Gram-positiivisten mikrobien kasvu on estetty sappisuolilla, tietyt hiivat kuitenkin kasvavat elatusaineella.

Koostumus

CLED elatusaine	MacConkey elatusaine	E. coli elatusaine			
Peptoni	10.0 g/l	Peptoni	20.0 g/l	Peptoni	12.0 g/l
Lihauute-	3.0 g/l	Laktoosi	10.0 g/l	MgSO ₄	0.1 g/l
Laktoosi	10.0 g/l	Neutraali-		MnCl ₂	0.01 g/l
L-Kystiini	0.13 g/l	puna	0.075 g/l	Fe-III-sitraatti	0.4 g/l
Bromtymoli-sininen	0.03 g/l	Sappisuolat	0.8 g/l	Sappisuolat	2.4 g/l
				8-hydroksikinoliini-beta-D-glukuronidi	

Turvamääräykset ja varoitoimenpiteet

Uricult Trio on tarkoitettu ainoastaan *in vitro* diagnostiseen käyttöön. Tuotetta ei tule käyttää riasiaan merkityn vanhenemispäivämäärän jälkeen.

Tuotetta ei tule käyttää, jos elatusaineessa ilmenee värimuutoksia tai kuumista tai jos elatusaine on irronnut muovilevystä tai sillä esiintyy mikrobikasvu.

Koska Uricult Trio:n elatusaineille kasvavat pesäkkeet ovat todellisia tai mahdollisia patogeeneja, kasvustoa ei tule koskettaa.

Säilytys

Uricult Trio säilytetään huoneenlämmössä suojattuna ilmavirroilta ja lämmönvaihtelulta. Tuotetta ei tule säilyttää vetoisessa paikassa eikä lämpöä tuottavien laitteiden läheisyydessä. **Uricult Trio ei saa jäätyä.** Vanhenemispäivämäärä on merkitty rasiaan.

Näytteenotto

Viljelystä varten virtsanäytteen tulisi olla ollut rakossa 4 tuntia ennen näytteenottoa. Tavallisimmin tutkitaan puhtaastilaskettu virtsa (keskusihku-näyte). Viljelyyn voidaan käyttää myös katetrivirtsanäytettä tai akkupun-kiäytettä.

Näyte tulisi siirrostaa Uricult Trio:lle välittömästi näytteenoton jälkeen. Siirrostuksen jälkeen levy viedään välittömästi takaisin putkeen, joka suljetaan huolellisesti.

Jos virtsanäyteitä joudutaan säilyttämään ennen siirrostusta Uricult Trio:lle, ne tulisi säilyttää jäähdytettyinä 2...8°C:n lämpötilassa korkeintaan 24 tuntia.

Lääkitys (erityisesti antibiootti) voi vaikuttaa Uricult Trio -tulokseen eikä testiä tulisi suorittaa ennenkuin 48 tuntia ennen viimeistä lääkeannoksesta.

Testin suoritus

- Levy poistetaan putkesta koskematta elatusainepintoja.
- Uricult Trio kastetaan puhtaastilaskettuun keskitvirtsanäytteeseen tulpasta kiinni pirtään niin, että molemmat elatusainepinnat kostuvat kauttaaltaan. Jos virtsanäärä 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 lämpökaapissa (36 ± 2°C) pystysuorassa asennossa 16–24 tunnin ajan. Putki voidaan myös lähettää laboratorion kasvustusta varten.
- Tulostusta varten levy poistetaan putkesta ja pesäketiheyttä verrataan rasiassa olevaan mallitauluun, jolloin tuloksena saatetaan pesäkeluku CFU/ml.

Huom:

- Negatiivista kasvutulosta voidaan viljellä edelleen 24 tuntia hitaasti kasvavien bakteerien esille vaahtamisen varmistamiseksi.
- Näytteeseen kastettu levy voidaan kasvattaa välittömästi tai kuljettaa laboratorioon kasvatetuksi ja tilustettavaksi. Kasvatusta edeltävän viljelyksen tai kuljetuksen ei tule ylittää 48 tuntia 7...25°C:ssa, jonka jälkeen Uricult Trio kasvatetaan 36±2°C:ssa 16–24 tuntia. Jos levy on säilytetty tai kuljetettu 48 tuntia, siltä voidaan suorit-taa vain kasvu- tai pesäkelututlustus, värireaktio voi olla epätyyppilinen.
- Näytteeseen kastettu levy voidaan kasvattaa huoneenlämmössä 1–3 päivää, jonka jälkeen positiiviset kasvutost voidaan lähettää erikois-laboratorioon jatkokutkimuksiin⁵. Negatiiviset levyt voidaan kasvattaa edelleen 24 tuntia 36±2°C:ssa hitaasti kasvavien bakteerien varmistamiseksi⁶.

Begrensninger

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

Sensitivitet/Spesifisitet

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 %	

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 10³–10⁶ 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 16-24 timer og les av følgende:
 - S. aureus ATCC 25923:** Vekst av gule 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.

Destruksjon

Brukte Uricult Trio dyppekulturer anbefales destruert ved forbrenning, autoklaving eller neddypping i et desinfeksjonsmiddel natten over. Følg lokale regler.

Uricult® Trio	Metodbeskrivelse	Svenska
---------------	------------------	---------

Tolkning av resultat

Etter inkubering av den inokulerade sliden ses förekomst av bakterier som kolonier på agarytorna. Då en koloni är ett resultat av att en enskild bakteriecell förökst sig, är antalet kolonier ett tecken på koncentrationen av colony-forming units (CFUs/mL att CFUs/L) i urinprovet. Bedömning av antalet kolonier görs från, det från början grönfärgade, CLED-agarmediet genom att jämföra slidens kolonitåthet med tolkningsmallens bilder och välja den som stämmer bäst överens. Det är viktigt att bedöma antalet kolonier och inte deras storlek.

Den låga elektrolytkoncentrationen i CLED-agarmediet förhindrar spridning av Proteus stammar. Bromtymolblått och laktos i mediet tillåter påvisande av laktosefermenterande bakterier. Sådana laktosefermenterande stammar växer som gula kolonier och ändrar mediets färg till gult, medan laktosnegativa stammar växer med genomskinliga kolonier och ändrar 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 och laktosnegativa med ofärgade kolonier.

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

Om urinens bakteriekoncentration 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 starkt 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.

Förväntade värden

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

Provtagningsmetod, klinisk status	Significant colony count (CFU/mL)
Mittstråle, blåstid < 4 timmar, symptomatisk patient	≥ 10 ³
Mittstråle, blåstid > 4 timmar	≥ 10 ⁴⁻⁶
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.

Begränsningar i metoden

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

Produktgenskaper

Uricult Trio • CLED medium		
Arnei, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Antal prøver	140	Referensmetod:
Sensitivitet	100 %	Agarplatta, Petridisk
Spesificitet	99 %	
PPV	98 %	
NPV	100 %	

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 10⁵–10⁸ bakterie/mL lösning i sterilit koksalt av följande bakteriestammar:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Använd lösningarna till att inokulera Uricult Trio sliderna, följ testproceduren.
- Avläs resultatet efter 16–24 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.

Avfall

Använda Uricult Trio slider bränns, autoklaveras eller läggs i desinfektionsmedel över natt eller enligt lokala rekommendationer.

Tulosten tulkinta

Kasvatuksen jälkeen bakteerit todetaan näytteeseen kastetuilta levyltä pesäkelkasvuna elatusaineella. Koska pesäkkeen muodostuminen on seurausta yksittäisten bakteerisolun jakautumisesta, pesäkkeiden lukumäärä ilmaisee virtsanäytteessä olevien pesäkkeitä muodostavien yksiköiden (CFU = Colony Forming Unit / pesäkkeitä muodosta-va yksikkö) lukumäärän. Pesäkeluvun määräyt tapahtuu alun perin vihreällä CLED-elatusaineella, vertaamalla pesäkkeiden tiheyttä mallitaulun lähinnä vastaavaan tiheyteen. Tällöin huomio kiinnitetään pesäkkeiden lukumäärään, ei pesäkelokoon.

CLED-elatusaineen alhainen elektrolyyttipitoisuus estää Proteus-lajien leviämistä. Bromtymoliisininen ja laktosi edesauttaa bakteerien laktoosin käytön toteamista. Laktoosi-positiiviset kannat kasvavat keltaisina pesäkkeinä. Laktosi-positiiviset bakteerit kasvavat elatusaineella punaisina ja laktosi-negatiiviset bakteerit värittöminä pesäkkeinä.

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

Kun pesäketiheyden on suuri (≥ 10⁷ CFU/ml), elatusaineen pinta voi olla peitynyt koko pinnan kattavalla yhtenäisellä kasvustolla. Tämä voidaan tulkita virheellisesti negatiiviseksi tulokseksi. Tämän vuoksi negatiiviselta vaikutava 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 muodosta-maa, tulos on yleensä seurausta virtsanäytteen kontaminaatiosta.

Odotusarvot

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

Näytteenottomenetelmä	Merkittävä pesäkeluku CFU/mL
Keskivirtsan, rakkoaika < 4 tuntia, oireellinen potilas	≥ 10 ³
Keskivirtsan, rakkoaika > 4 tuntia	≥ 10 ⁴⁻⁶
Katetrinäyte miehiltä	≥ 10 ³
Katetrinäyte naisilta	≥ 10 ⁴
Oireeton bakteriuria	≥ 10 ⁵
Rakkopunktiönäyte	Kasvu

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

Rajoitukset

Uricult Trio:lla voidaan todeta virtsan bakteeripitoisuudet alueella 10³ ja 10⁷ CFU/ml. Mallitaulun avulla voidaan määrittää pesäkeluku lähimpään 10 potenssiin. Ohjeen mukaisesti käytettyinä saatu pesäkelukutulos korreloi perinteisen maljavalumenetelmän kanssa 99 %¹.

Toimivuus

Uricult Trio • CLED elatusaine		
Arnei, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121 ⁶ .		
Näyttemäärä	140	Referenssimenetelmä:
Herkkyys	100 %	Maljavalu (Ravinto-agar)
Spesifisyys	99 %	
PPV	98 %	