

Ενδεικτική Χρήση

Θρεπτικό υλικό σε μορφή dip slide για ανίχνευση βακτηριουρίας.

Αρχή της μεθόδου

Το σύστημα Uricult Plus dip slide βασίζεται σε τρία θρεπτικά υλικά. Η μία πλευρά του πλαστικού slide είναι καλυμμένη με πράσινο υλικό Cled και η άλλη πλευρά με καστανοκόκκινο υλικό MacConkey και χρωμογό εκλεκτικό υλικό Enterococcus.

Το υλικό Cled ενδείκνυται για ανίχνευση του συνολικού βακτηριακού φορτίου. Το υλικό MacConkey ενδείκνυται για την ανίχνευση των gram-αρνητικών οργανισμών. Αυτό το υλικό περιέχει χολικά άλατα τα οποία εμποδίζουν την ανάπτυξη των gram θετικών οργανισμών εκτός των εντεροκόκκων, οι οποίοι μπορούν να αναπτυχθούν και να σχηματίσουν στικτές αποικίες. Το εκλεκτικό υλικό Enterococcus ενδείκνυται ειδικά για την ανίχνευση των εντεροκόκκων. Ορισμένοι στρεπτόκοκκοι της ομάδας Β μπορούν να αναπτυχθούν στο υλικό αυτό.

αντιδραστήρια**Περιεχόμενα**

Uricult Plus	Cat. No. 67465
Dip slides	10
ετικέτες ασθενών	10
Οδηγίες χρήσης	1

Αποθήκευση

Το Uricult Plus αποθηκεύεται στους 7...25°C, προστατευμένο από τον αέρα και διακυμάνσεις της θερμοκρασίας. Αποφύγετε ρεύματα αέρα και αποθήκευση κοντά σε συσκευές που παράγουν θερμότητα. **ΜΗΝ ΤΑ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ.** Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη πάνω στη συσκευασία.

Προειδοποιήσεις – Προφυλάξεις

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

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

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

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

Δειγματοληψία ούρων και αποθήκευση των δειγμάτων

Ιδανικά, τα ούρα για την καλλιέργεια θα έπρεπε να έχουν παραμείνει για 4 ώρες στην ουροδόχο κύστη, πριν από τη λήψη.

Τα ούρα λαμβάνονται με κένωση της κύστης (καθαρό – μέσο ρεύμα ούρησης), καθετηριασμό ή υπερηβική παρακέντηση.

Το δείγμα πρέπει να εμβολιάζεται πάνω στο Uricult Plus slide αμέσως μετά την λήψη. Το slide πρέπει αμέσως να επαναποθηκεύεται στο προστατευτικό του σωληνάριο και να κλείνεται πολύ καλά.

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

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

Μέθοδος

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

Σημείωση:

- Οι αρνητικές καλλιέργειες και τα επιπλεγμένα δείγματα ή τα δείγματα με ουρολογικές σχετιζόμενες με καθήκοντα συνιστάται να επωάζονται πάντα για 24 ώρες επιπλέον, ώστε να εξασφαλιστεί η ανίχνευση βραδέως αναπτυσσόμενων βακτηρίων.
- Το εμβολιασμένο slide μπορεί να επωασθεί αμέσως ή να αποθηκευθεί ή να μεταφερθεί σε εργαστήριο για επώαση και αξιολόγηση. Η αποθήκευση ή η μεταφορά δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 48 ώρες σε θερμοκρασία 7...25°C, μετά από την οποία το Uricult Plus μπορεί να επωασθεί στους 36±2°C για 16–24 ώρες. Εάν το Uricult Plus έχει αποθηκευθεί ή μεταφερθεί για 48 ώρες, μόνο η παρουσία ανάπτυξης και ο ημισποστικός προσδιορισμός αξιολογείται. η παραγωγή χρώματος μπορεί να είναι ατυπική.
- Το εμβολιασμένο slide μπορεί να επωασθεί σε θερμοκρασία δωματίου από 1–3 ημέρες, μετά από την οποία θετικές καλλιέργειες αποστέλλονται σε ειδικευμένο εργαστήριο για περαιτέρω διερεύνηση⁵. Αρνητικές καλλιέργειες μπορούν να επωασθούν για 24 ώρες ακόμα, για την ανίχνευση των αργά αναπτυσσόμενων βακτηρίων⁵.

Ποιοτικός έλεγχος

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

- Ετοιμάστε ένα αναίχτημα 10⁵–10⁶ βακτηρίων/ml από το καθένα από τα ακόλουθα βακτήρια, σε αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό:
 - Staphylococcus aureus ATCC 25923
 - Escherichia coli ATCC 25922
 - Proteus mirabilis ATCC 12453
 - Enterococcus faecalis ATCC 29212
- Χρησιμοποιήστε τα αναίχτηματα για να εμβολιάσετε τα Uricult Plus dip slides, χρησιμοποιώντας την κανονική μέθοδο.

- Αξιολογήστε τα αποτελέσματα, μετά από 16–48 ώρες ως ακολούθως:

S. aureus ATCC 25923:

Ανάπτυξη αποικιών μόνο στο υλικό Cled. Οι αποικίες ζυμώνουν την λακτόζη, όπως αποδοκνύεται από το κίτρινο χρώμα των αποικιών, καθώς και από την αλλαγή του χρώματος του υλικού σε κίτρινο.

E. coli ATCC 25922:

Ανάπτυξη κίτρινων αποικιών με αλλαγή χρώματος σε κίτρινο του υλικού Cled και ανάπτυξη ροζ-κόκκινων αποικιών στο υλικό MacConkey. Καμία ανάπτυξη στο υλικό Enterococcus.

P. mirabilis ATCC 12453:

Ανάπτυξη ημιδιαφανών αποικιών με πιθανή αλλαγή του χρώματος σε μπλε του υλικού Cled και ανάπτυξη άχρωμων αποικιών στο υλικό MacConkey. Καμία ανάπτυξη στο υλικό Enterococcus.

Ent. faecalis ATCC 29212:

Ανάπτυξη κίτρινων αποικιών στο υλικό Cled, με αλλαγή του χρώματος του υλικού σε κίτρινο. Ανάπτυξη πολύ μικρών ή καθόλου αποικιών στο υλικό MacConkey. Ανάπτυξη κόκκινων αποικιών στο υλικό Enterococcus.

Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

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

Το αρχικό πράσινο υλικό Cled χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του αριθμού των αποικιών. Η χαμηλή συγκέντρωση ηλεκτρολυτών στο υλικό Cled εμποδίζει την εξάπλωση των στελεχών του Proteus. Το Bromthymol Blue και η Lactose στο υλικό επιτρέπουν την ανίχνευση του βακτηρίου που ζυμώνει την λακτόζη. Τα λακτόζη θετικά στελέχη δίνουν κίτρινες αποικίες και αλλάζουν το χρώμα του υλικού προς το κίτρινο, ενώ τα λακτόζη αρνητικά δίνουν ημιδιαφανείς αποικίες χωρίς αλλαγή του χρώματος του υλικού.

Το αρχικό καστανοκόκκινο εκλεκτικό υλικό MacConkey υποστηρίζει την ανάπτυξη των Gram αρνητικών βακτηρίων, αλλά και οι εντεροκόκκοι μπορούν να δώσουν καλά διακριτές αποικίες πάνω στο υλικό⁷. Τα λακτόζη θετικά βακτήρια δίνουν κόκκινες ενώ τα λακτόζη αρνητικά ημιδιαφανείς αποικίες πάνω στο υλικό.

Οι εντεροκόκκοι και κάποιοι στρεπτόκοκκοι της ομάδας Β παράγουν κόκκινες αποικίες σε διάφορα σχήματα πάνω στο υλικό Enterococcus. Καθώς η εκλεκτικότητα του υλικού βασίζεται στην παρουσία των nalidixic acid, polymyxin και crystal violet, το υλικό θα υποστηρίξει την ανάπτυξη των οργανισμών που είναι ανθεκτικά σ' αυτά τα αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων και των ειδών του Πρωτέα από τα ούρα των ενδοσοκομειακών ασθενών. Εντούτοις, η διαφορά στο μέγεθος των αποικιών μειώνει την πιθανότητα για ψευδή αξιολόγηση.

Οταν η περιεκτικότητα των ούρων σε βακτήρια είναι υψηλή (≥ 10⁷ CFU/ml), οι επιφάνειες των υλικών καλύπτονται τελείως από συρρέουσες αποικίες. Αυτό μπορεί να αξιολογηθεί λαθεμένα ως αρνητικό αποτέλεσμα. Γι' αυτό, όλες οι επιφάνειες που δείχνουν αρνητικές θα πρέπει να εξετάζονται κάτω από ανακλώμενο φως. Απουσία ανάκλασης σημαίνει συρρέουσα ανάπτυξη.

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

Περιορισμοί της μεθόδου

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

Αναμενόμενες Τιμές

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

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

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

Συγκριτικά αποτελέσματα**Uricult Plus • Υλικό CLED**

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

Απόρριψη

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