

FLEXICULT™
SSI-URINKIT

SSI Diagnostica 



Udarbejdet af

Niels Frimodt-Møller, Professor, overlæge dr.med.

Aase Meyer, Produktspecialist

Layout

Kristian Teilmann Frederiksen

FLEXICULT™ SSI-URINKIT er et dyrkningskit til diagnosticering af urinvejsinfektioner (UVI).

Samtidig med dyrkningen (kvantitering af mængden af bakterier) foretages resistensbestemmelse af den patogene bakterie overfor trimethoprim, sulfamethizol, ampicillin, nitrofurantoin og mecillinam.

SSI-urinkit er udformet som en agarplade med forhøjede sider, opdelt i felter med skillevægge og et tilhørende låg. Der er ét stort tællefelt til semikvantitativ bestemmelse og 5 mindre felter med hvert deres antibiotikum.

Felterne er markeret med tal i bunden af pladen:

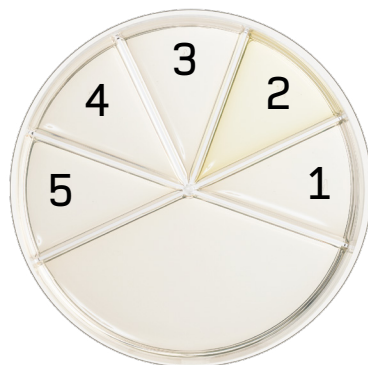
5 = trimethoprim

4 = sulfamethizol

3 = ampicillin

2 = nitrofurantoin

1 = mecillinam



Da agaren indeholder en fastlagt mængde af de forskellige antibiotika, skal pladen aflæses med vækst/ikke vækst. Efter inkubering natten over ved 35°C, vil de enkelte bakterier være vokset frem til synlige kolonier. Bakterier vil vokse frem i de antibiotikumfelter, hvor de er resistente over for pågældende antibiotikum. Bakterier, der er følsomme, vil være hæmmet af antibiotikumkoncentrationen, og vil ikke vokse, dvs. blive til kolonier. Væksten sammenlignes med kontrolfeltet.

Baggrund

Kriterier for urinvejsinfektion

Diagnosen UVI stilles ved påvisning af bakteriuri, dvs. bakterier i urinen. Hos en patient med de nedenfor angivne symptomer vil fund af $\geq 10^3$ bakterier/mL urin af en typisk urinvejspatogen bakterie være tegn på UVI. Der vil i reglen også være leukocyturi.

Symptomer

- Smerter ved vandladning
- Hyppig vandladning
- Smerter over symfyen
- Eventuelt let feber

Urinvejsinfektioner (UVI)

- En af de hyppigste infektioner i almen praksis (3 - 400.000/år i DK)
- Forekommer 6 x hyppigere hos kvinder
- 20 % af kvinder med UVI får recidiv
- Årsag til 1/5 af antibiotikaforbruget i almen praksis
- Årsag til 1/2 af *E. coli* bakteriemier
- Oftest forårsaget af *E. coli*, som udgør 80 % (kommer fra patientens egen tarmflora)

Definitioner

Klassifikation

- Asymptomatisk / symptomatisk
- Nedre / øvre
- Ukompliceret / kompliceret
- Akut / recidiverende / kronisk

Akut ukompliceret

- **Cystitis:**
Kvinder mellem 14 - 60 år med symptomer på UVI (smerter ved vandladning, hyppig vandladning), men som ikke har feber, og som ikke har haft UVI indenfor 4 uger
- **Pyelonefrit:**
Feber, lændesmerter, kvinder mellem 14 - 60 år, ingen urologiske abnormiteter

Kompliceret

- Alle andre
- Børn, mænd, kvinder > 60 år
- Patologiske forandringer i urinvejene
- Asymptomatisk bakteriuri hos gravide
- Recidiverende (x 3 UVI indenfor 12 mdr.)

Af patienter med ukompliceret UVI vil 20 - 30 % have 10^{3-4} bakterier/mL urin, mens resten vil have $\geq 10^5$ bakterier/mL.

Hos de fleste patienter med kompliceret UVI, hvor de øvre urinveje er involveret (pyelonefritis), vil der være mindst 10^5 bakterier/mL urin.

Hos patienter uden symptomer på UVI er der tale om asymptomatisk bakteriuri, når der påvises $\geq 10^5$ bakterier/mL af den samme bakterie i to urinprøver taget med mindst 24 timers mellemrum.

Gravide

UVI hos gravide kan være symptomatisk eller asymptomatisk. Behandles under alle omstændigheder for at nedsætte risikoen for kompliceret UVI omkring fødselstidspunktet. Gravide screenes for bakteriuri et par gange under graviditeten, første gang omkring 20. uge. Gruppe B streptokokker (*Streptococcus agalactiae*) forekommer i urinen (og i fæces) hos op til 30 % af gravide kvinder, hvor den kan udgøre en risiko for det nyfødte barn. Skal kun behandles ved tegn på UVI. Bakterierne forårsager kun sjældent egentlig UVI hos den gravide kvinde. Gruppe B streptokokker gror kun sjældent på Flexicult™, hvorfor undersøgelse for denne bakterie i urinen bør foretages ved at udså urinen på en blodagarplade (kan bestilles hos SSI eller sendes til lokal mikrobiologisk afdeling).

Prøvetagning

- Urinvejene er sterile indtil 1/2 cm fra meatus urethrae externae (m.u.e)
- Problem: Ved prøvetagning at undgå forurening fra m.u.e.
- Løsning:
 - 1) Punktur (Suprapubisk blærepunktur, nefrostomi). Hos børn under 2 år anbefales suprapubisk punktur, som udføres på børneafdelinger.
 - 2) Midtstråle urin (MSU). Ved en MSU afvaskes området omkring m.u.e. med rent vand. Labiae ext. holdes til side og patienten lader en portion urin, der skyller urethra ren. Herefter opsamles urinprøven fra en ny urinstråle (midtstråle) i en ren (helst steril) beholder.
 - 3) Hos ældre patienter, fx på plejehjem, bør overvejes engangskaterisation.

For en urinprøve ved en-gangs-katerisation, suprapubisk blæreurin eller efter nefrostomi gælder ovenstående retningslinjer ikke. Her vil ethvert fund af bakterier være patologisk og tegn på UVI.

NB! Urinprøver tilsat borsyre kan ikke anvendes i Flexicult™, idet syreindholdet vil påvirke antibiotikaresistensen.

Diagnostik

Dyrkning - fremgangsmåde

1. Patient med mistænkt urinvejsinfektion (UVI) leverer en urinprøve.
2. Mærk prøven med patientens navn og dato.
3. Urinprøven hældes kortvarigt (5 - 10 sek.) over agaren i Flexicult™. Dækker urinprøven ikke alle agarfelter, vippes pladen, således at alle felter kommer i kontakt med urinprøven. Ved mindre mængde urin kan der dryppes 2 dråber urin i hvert antibiotikafelt og 6 dråber i tællefeltet. Pladen stilles på bordet op til 10 min. inden inkubering.
4. Overskydende urin hældes fra henover antibiotikafelterne.
5. Låget påsættes og agarpladen inkuberes med låget nedad ved 35°C natten over.
6. Pladen aflæses næste dag.



Aflæsning af Flexicult™

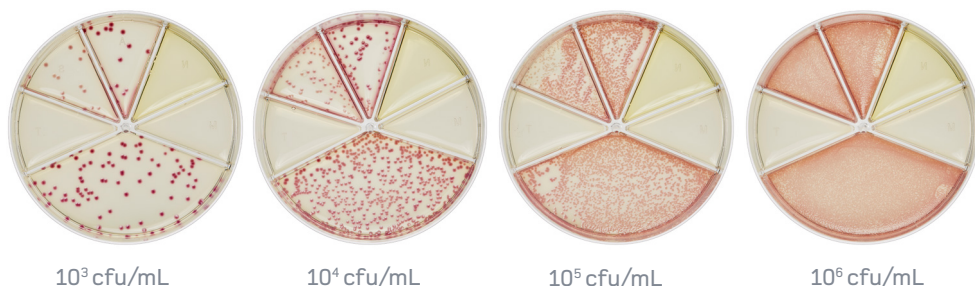
Efter inkubation natten over aflæses pladen for vækst.

E. coli og *Proteus* sp. vil vokse godt med store kolonier, dvs. 2 - 4 mm i diameter. *Klebsiella* sp. og *Enterobacter* sp. vil vokse med endnu større, fede kolonier. Enterokokker og streptokokker vokser med små kolonier (0,5 - 1 mm), stafylokokker og *Candida* sp. lidt større (1 - 2 mm).

Bakterie	Kolonistørrelse	Kolonifarve	Agarfarve
<i>E. coli</i>	Stor	Rød	-
<i>Klebsiella</i> sp.	Stor, fed	Mørkeblå/violet	-
<i>Enterobacter</i> sp.	Stor	Mørkeblå/violet	-
<i>Proteus</i> sp.	Stor	Lysebrun	Brun
<i>Proteus vulgaris</i>	Stor (sværm)	Grønbrun	Brun
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Stor	Gråhvid/grønlig	Grønlig
<i>Enterococcus faecalis</i>	Små	Grøn/grønblå	-
<i>Enterococcus faecium</i>	Små	Grønlig/grå	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Små	Hvid/rosa	-
<i>Candida</i> sp.	Stor/mindre	Hvid	-

Aflæsning af antal bakterier/mL urin

Koloniantallet vurderes i forhold til billederne nederst på denne side. Vokser der flere bakteriearter samtidigt vurderes mængden af hver bakterie. Ud fra billederne på siderne 11 - 21 vurderes det, om der vokser en urinvejspatogen bakterie i en mængde på $\geq 10^3$ bakterier/mL. Antal bakterier tælles på agar plader som antal kolonier og angives også som "colony forming units", CFU (se figurer). Hvis der er én patogen bakterie i blanding med normal urethraflora, ses der bort fra sidstnævnte. Er der mere end én patogen bakterie vurderes det, om én er dominerende, dvs. i mængde 10 gange højere end den anden. Hvis dette ikke er tilfældet, og hvis der er flere end to urinvejspatogene bakterier, kan prøven ikke vurderes, og der bør tages en ny prøve. Der vil ofte forekomme normal- eller forureningsflora i op til 20 - 25 % af urinprøver, selv om prøvetagningen er udført korrekt. Der er i 95 % af tilfælde med UVI kun én patogen bakterie, der forårsager infektion. Hvis der er flere urinvejspatogene bakterier i samme mængde på Flexicult™, fx $> 10^5$ af både *E. coli* og *Klebsiella* sp., anbefales det at tage en ny prøve med omhyggelig afvask osv. for at finde den relevante patogene bakterie. Tilstedeværelse af flere urinvejspatogene bakterier er derimod et hyppigt fund hos patienter med kateter a demeure.



Bakterier/mL urin	Bakteriearter	Patient med symptomer	Patient uden symptomer, fx gravid
$< 10^3$	Uanset arter	Ej UVI	-
$10^2 - 10^4$	Normal flora	Ej UVI	-
$\geq 10^3$	Renkultur, urinvejspatogen	UVI	Ny prøve mhp asympt. bakteriuri
$\geq 10^3$	Dominerende urinvejspatogen i blanding med normalflora	UVI	Ny prøve mhp asympt. bakteriuri
$\geq 10^3$	Flere urinvejspatogener	Mulig UVI Ny prøve anbefales	-
$\geq 10^3$	<i>Candida</i> sp.	Ej UVI	-

Aflæsning

- **Symptomatisk UVI:**
 $\geq 10^{3-4}$ bakterier/mL urin af urinvejspatogene bakterier (*Enterobacteriaceae*, *S. saprophyticus*, enterokokker m.fl.)
- **Asymptomatisk UVI:**
 $\geq 10^5$ bakterier/mL urin af samme bakterie i to prøver taget med 24 timers mellemrum

Aflæsning af resistens

Vokser der mere end $\geq 10^3$ bakterier/mL af en urinvejspatogen bakterie enten alene eller i dominerende mængde, kan resistensen aflæses. Væksten i antibiotikafelterne sammenlignes med væksten i tællefeltet. Hvis væksten i et antibiotikumfelt er meget mindre, dvs 100 x reduktion i bakterietal, end i tællefeltet - eller slet ingen vækst - vurderes bakterien som følsom (S) for det pågældende antibiotikum. Hvis bakterien vokser i antibiotikumfeltet, aflæses den som resistent (R).

I tabellen på næste side er der vist den oprindelige følsomhed for de mest almindelige UVI bakterier. Herved forstås, at nogle bakterier er naturligt resistente over for nogle antibiotika, fx er *Klebsiella* sp. altid resistent overfor ampicillin, enterokokker resistente overfor mecillinam, og *Candida* sp. altid resistente overfor alle fem antibiotika i Flexicult™ pladen. Dette kan medføre, at der vil forekomme andre resistensmønstre for de forskellige bakteriegrupper på grund af resistensudvikling.

Bakterie	Følsom = S eller Resistent = R				
	Trime-thoprim	Sulfame-methizol	Ampicillin	Nitrofu-rantoin	Mecilli-nam
<i>E. coli</i>	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella</i> sp.	S	S	R	S/R	S
<i>Enterobacter</i> sp.	S	S	R	S/R	S
<i>Proteus</i> sp.	S	S	R/S	S/R	S/R
<i>Proteus vulgaris</i>	S	S	R/S	R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	R	R	R
<i>Enterococcus faecalis</i>	S	R	S	S	R
<i>Enterococcus faecium</i>	S	R	S	S	R
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	S	S	S	S	S/R
<i>Candida</i> sp.	R	R	R	R	R

Normalflora (hudflora)

Selv om prøveopsamlingen foregår meget omhyggeligt, vil der i en urinprøve ofte være normalflora, som vokser frem på agarpladens kontrolfelt. Normalfloraen består hovedsageligt af koagulase negative stafylokokker (KNS), der på kontrolfeltet vokser frem som små hvide kolonier. En urinvejsinfektion (UVI) forårsaget af *E. coli* vil let kunne adskilles fra normalfloraen, idet *E. coli* vokser frem med større og røde kolonier. Urinprøvens indhold af normalflora varierer.

Typiske urinvejsbakterier	
Enterobacteriaceae:	
• <i>E. coli</i>	70 - 80 %
• <i>Klebsiella</i> sp.	3 - 5 %
• <i>Proteus</i> sp.	2 - 4 %
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5 - 10 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	4 - 15 %
<i>Enterococcus faecium</i>	< 2 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	< 2 %

Enterokokker forekommer ofte som forurening, også i renkultur; vigtigt at vurdere symptomer og klinik.

Behandling

- **Behandling overvejes:**

Symptomatisk, ukompliceret UVI hos kvinder. Ved symptomer og fund af *E. coli*, uanset mængde $\geq 10^3$ bakt./ml er behandling indiceret. Ved fund af enterokokker og uklare symptomer, bør urindyrkning gentages, og kun ved fornyet fund af enterokokker overvejs behandling. Gravide: Ved asymptomatisk bakteriuri hos gravide bør der foretages 2 urindyrkninger, og kun ved fund af samme bakterie i begge dyrkninger behandles med antibiotika.

- **Behandling påkrævet:**

Kompliceret UVI (børn, mænd, kvinder > 60 år)

Asymptomatisk bakteriuri hos gravide

- **Skal ikke behandles:**

Asymptomatisk bakteriuri hos alle andre inkl. kateterbærere

Stiks

Principper for stiks undersøgelse af nitrit. Nitrit reaktionen kræver at urinen har stået mindst 2 timer i blæren, så bakterierne har nået at omdanne nitrat til nitrit. Gram-positiv kokker (enterokokker og stafylokokker) reducerer ikke nitrat. Nitrit reaktionen er indstillet til en koncentration på $\geq 10^5$ bakterier/mL urin.

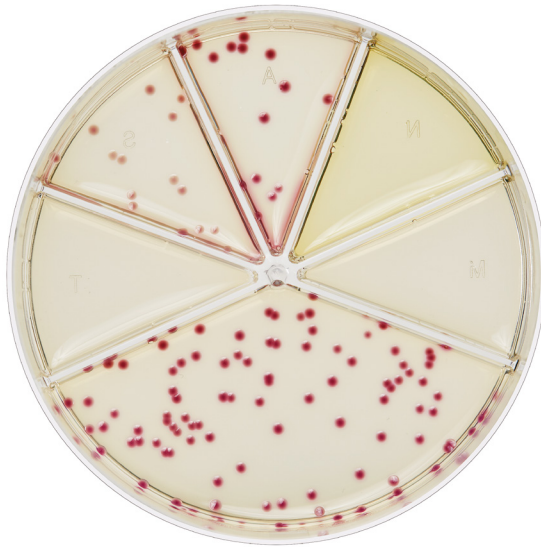
Tolkning af stiksundersøgelse

Nitrit	Leukocyt	Tolkning
+	+	Patienten har med stor sandsynlighed UVI
-	-	Patienten har næppe UVI. OBS: op til 40 % falsk negativ*
+	-	Patienten har bakteriuri, muligvis UVI
-	+	Patienten har muligvis UVI, 50 % er ikke inficeret

* Hyppigheden af falsk negative afhænger af, hvilken population der undersøges.

E. coli

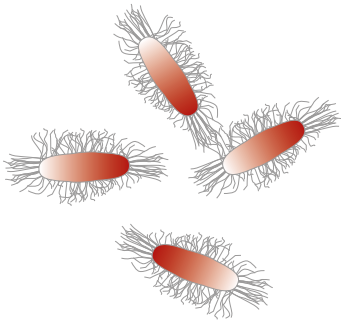
Colibakterier er store gram-negative oftest bevægelige stave. *E. coli* er den mest almindelige bakterie isoleret fra kliniske prøver.



Bakterierne vokser med store røde kolonier.

Ca. 70 - 80 % af alle urinvejsinfektioner er forårsaget af *E. coli*.

10^3 cfu/mL

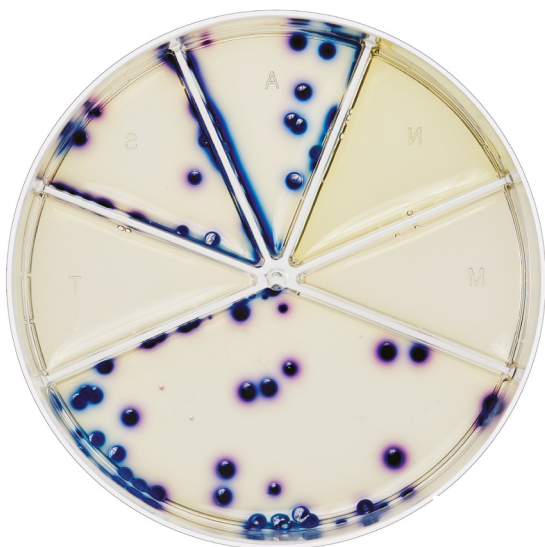


10^5 cfu/mL

På billedet ses *E. coli* i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor sulfamethizol og ampicillin.

Klebsiella sp.

Klebsiella er store ubevægelige gram-negative stave.

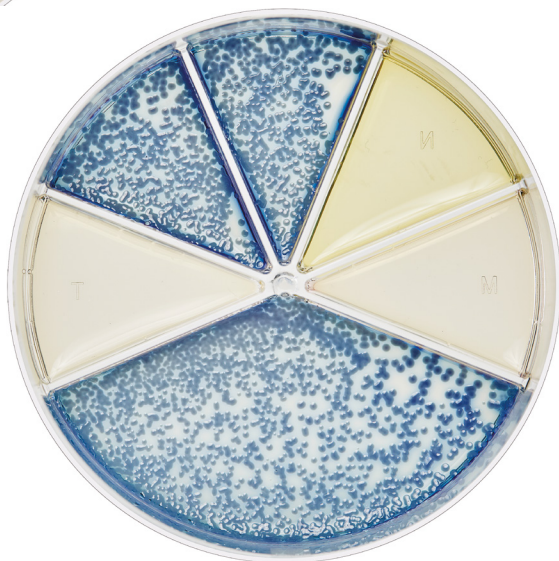
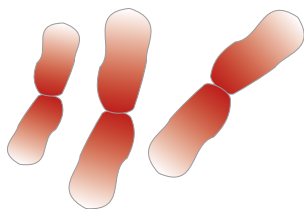


Bakterierne vokser med store fede mørkeblå/violet kolonier.

Klebsiella er resistent for ampicillin og ofte også for nitrofurantoin.

Ca. 3 - 5 % af alle urinvejsinfektioner er forårsaget af *Klebsiella* sp. eller *Enterobacter* sp.

10^3 cfu/mL

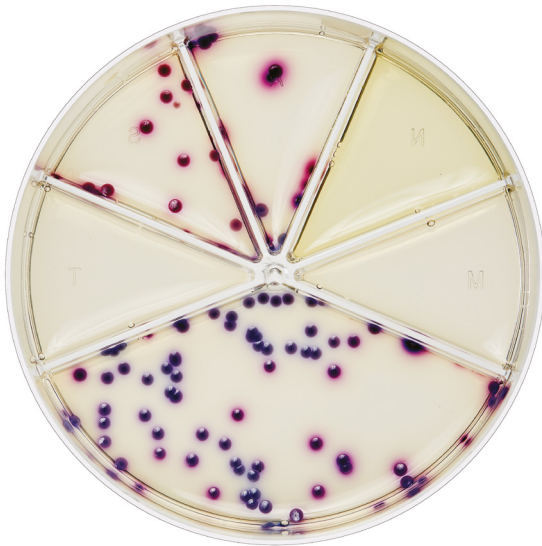


10^5 cfu/mL

På billedet ses *Klebsiella* sp. i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor sulfamethizol og ampicillin.

Enterobacter sp.

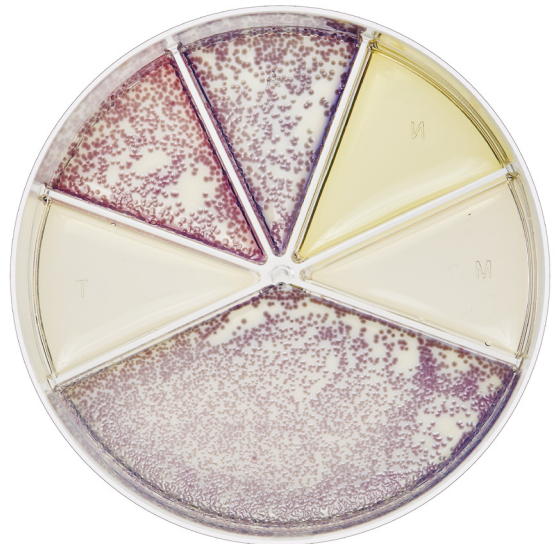
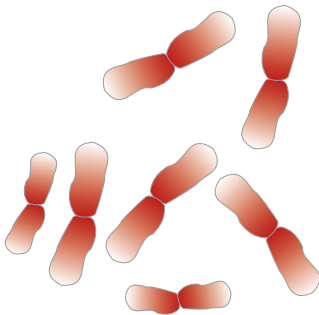
Enterobacter er store bevægelige gram-negative stave.



Bakterierne vokser med store mørkeblå/violet kolonier. De fleste stammer er resistente overfor ampicillin.

Ca. 3 - 5 % af alle urinvejsinfektioner er forårsaget af *Enterobacter* sp. eller *Klebsiella* sp.

10^3 cfu/mL



10^5 cfu/mL

På billedet ses *Enterobacter* sp. i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor sulfamethizol og ampicillin.

Proteus sp.

Proteus er store bevægelige gram-negative stave.

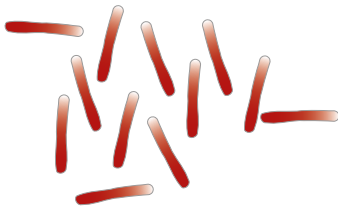


Bakterien vokser med store lyse-brune/brune kolonier. Der vil være en brunfarvning af agaren rundt om bakterien.

Proteus sp. er medvirkende til stendannelse, idet bakterien spalter urinstof under dannelse af ammoniak.

10^3 cfu/mL

Det bevirker, at urinen bliver alkalisk og hvorved der udfældes en del salte fx calciumfosfat. Ca. 2 - 4 % af urinvejsinfektioner er forårsaget af *Proteus* sp. hyppigst *P. mirabilis*.



10^5 cfu/mL

På billedet ses *Proteus* sp. i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor ampicilin, nitrofurantoin og mecillinam.

Proteus vulgaris

Proteus er store bevægelige gram-negative stave.

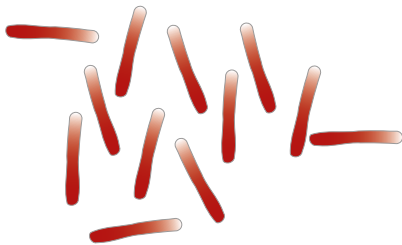


Bakterien vokser med store grøn-brune kolonier. Der vil være en brunfarvning af agaren rundt om bakterien.

Proteus sp. er medvirkende til stendannelse, idet bakterien spalter urinstof under dannelse af ammoniak.

10^3 cfu/mL

Det bevirker at urinen bliver alkalisk og hvorved der udfældes en del salte fx calciumfosfat. Ca. 2 - 4 % af urinvejsinfektioner er forårsaget af *Proteus* sp. hyppigst *P. mirabilis*.



10^5 cfu/mL

På billedet ses *Proteus vulgaris* i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor nitrofurantoin og ampicillin.

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas er tynde bevægelige gram-negative stave.

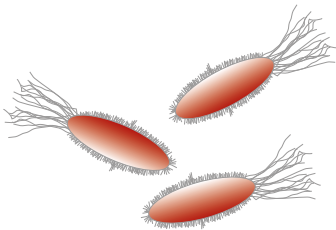


Bakterien vokser med gråhvide/grønne kolonier, ofte vil agaren få en grønlig farve, og pladen vil have en sødlig lugt.

Desuden får kolonierne ofte et metalagtigt skær.

10^3 cfu/mL

Pseudomonas vil være resistent for samtlige antibiotika i pladen. Ca. 0 - 2 % af alle urinvejsinfektioner er forårsaget af *Pseudomonas*.

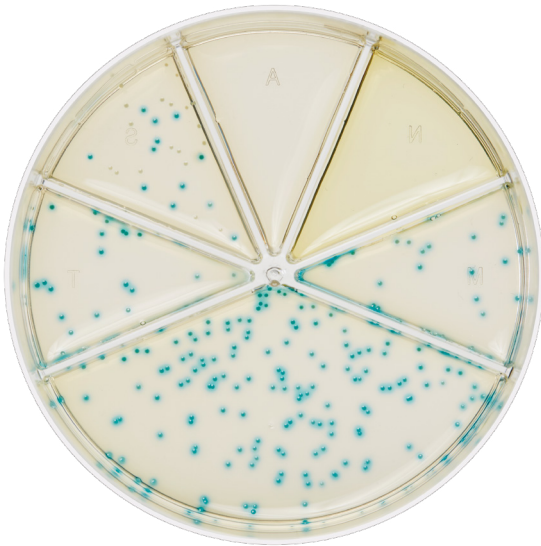


10^5 cfu/mL

På billedet ses *Pseudomonas aeruginosa* i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor samtlige antibiotika.

Enterococcus faecalis

Enterokokker er gram-positive kokker i korte og lange kæder.

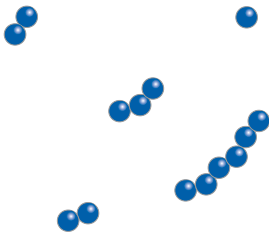


Bakterierne vokser med små grønne/grønblå kolonier.

Enterococcus faecalis er altid resistent overfor sulfamethizol og mecillinam.

10^3 cfu/mL

Ca. 4 - 15 % af alle urinvejsinfektioner er forårsaget af *Enterococcus faecalis*.

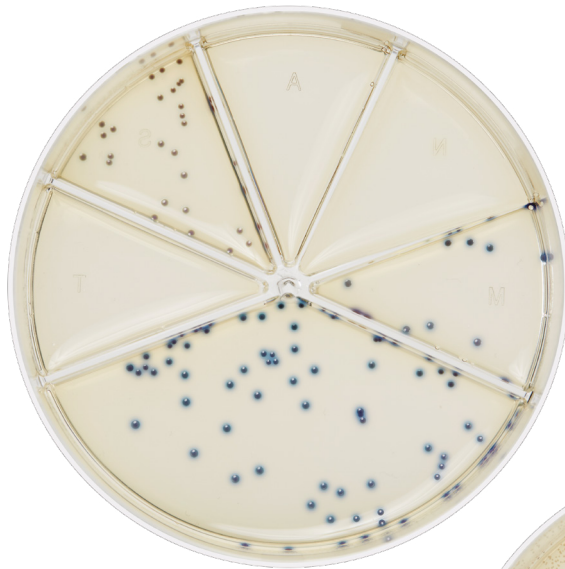


10^5 cfu/mL

På billedet ses *Enterococcus faecalis* i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor trimethoprim, sulfamethizol og mecillinam.

Enterococcus faecium

Enterokokker er gram-positive kokker i korte og lange kæder.

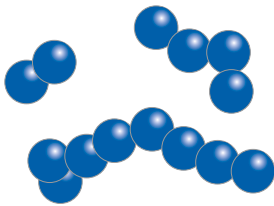


Bakterierne vokser med små grøn-lige /grå kolonier.

Enterococcus faecium er resistent overfor sulfamethizol og mecillinam.

Ca. 0 - 2 % af alle urinvejsinfektioner er forårsaget af *Enterococcus faecium*.

10^3 cfu/mL

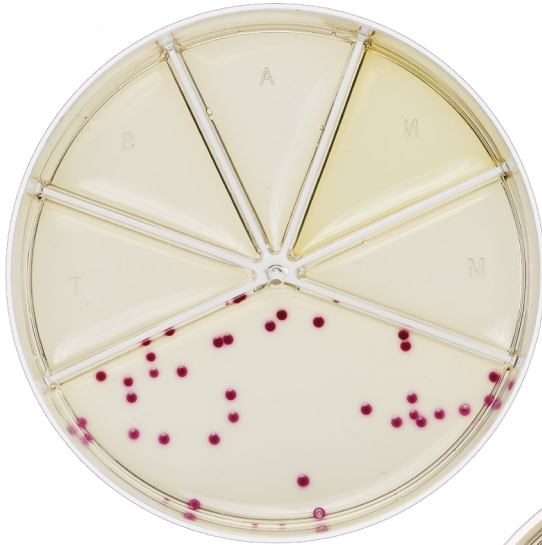


10^5 cfu/mL

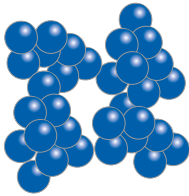
På billedet ses *Enterococcus faecium* i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er resistent overfor sulfamethizol og mecillinam.

Staphylococcus saprophyticus

Stafylokokker er gram-positive kokker lejret i hobe.



10^3 cfu/mL



Bakterierne vokser med små kolonier der er hvide/rosa.

Staphylococcus saprophyticus er oftest resistent overfor mecillinam.

Ca. 5 - 10 % af alle urinvejsinfektioner er forårsaget af *Staphylococcus saprophyticus*, bakterien ses især hos kvinder i den fertile alder.



10^5 cfu/mL

På billedet ses *Staphylococcus saprophyticus* i forskellige koncentrationer. Den viste bakterie er følsom overfor samtlige antibiotika.

Candida sp.

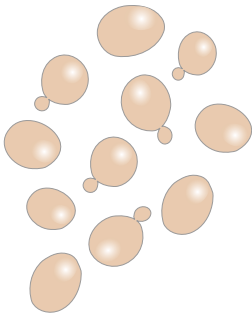
Candida er gærsvampe, der farves gram-positiv.



Candida vokser med mellemstore hvide kolonier.

Candida er resistent overfor samtlige antibiotika i pladen.

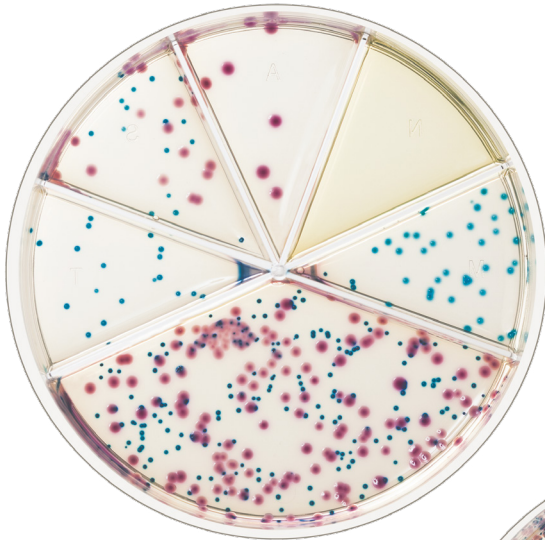
10^3 cfu/mL



10^5 cfu/mL

På billedet ses *Candida* i forskellige koncentrationer. *Candida* er resistent overfor samtlige antibiotika.

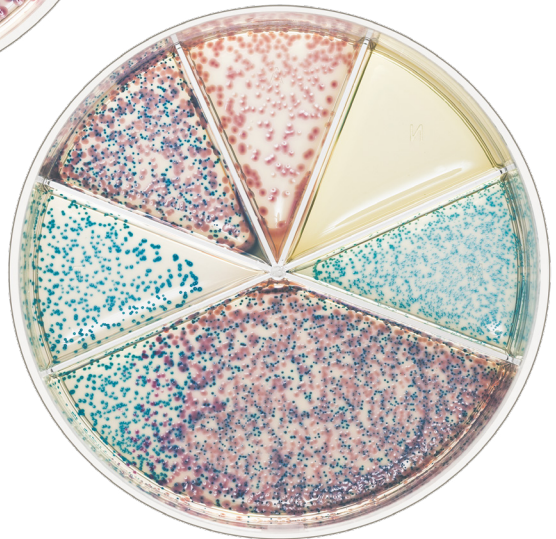
Blandingsflora



Blandingsflora af 10^3 *E. coli* og 10^3 *Enterococcus faecalis*.

10^3 cfu/mL

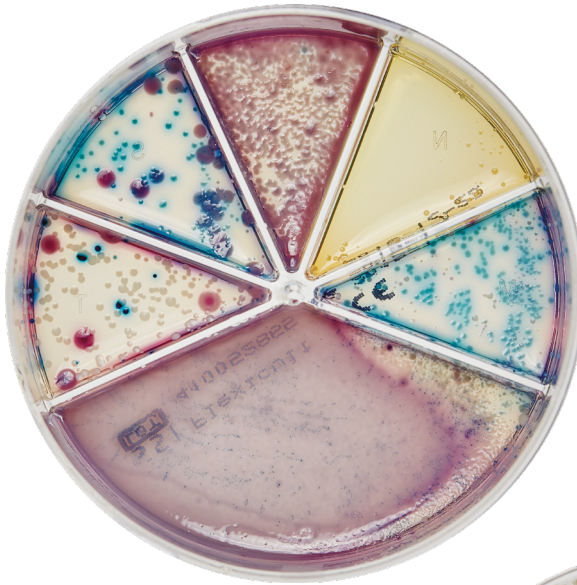
Blandingsflora af 10^5 *E. coli* og 10^5 *Enterococcus faecalis*.



10^5 cfu/mL

E. coli er resistent overfor sulfamethizol og ampicillin. *Enterococcus faecalis* er resistent overfor trimethoprim, sulfamethizol og mecillinam.

Patientprøver



Blandingsflora med 10^6 *E. coli* og 10^3 *Enterococcus faecalis*.

E. coli er resistent for ampicillin.
Enterococcus faecalis er resistent for sulfamethizol og mecillinam.

10^3 *E. coli* og 10^4 *Candida*.

E. coli er resistent for nitrofurantoin.



Patientprøver



Blandingsflora med 10^5 *E. coli*.

E. coli er resistent for ampicillin og mecillinam.

10^4 normalflora.



Ikke-patogene bakterier (normalflora)



10^4 *Staph. epidermidis* (KNS).

10^3 *Lactobacillus* sp.



Referencer

1. Stamm, W.E. et al, N. Engl. J. Med., 1982, 307, 463-8.
2. Kunin, C.M. et al, Ann. Inter. Med., 1993, 119/6, 454-460.
3. Blom, M. et al, Scand J Infect Dis, 2002, 34: 430-435.
4. Hooton, Thomas M et al. The New England Journal of Medicine, 2013, Vol. 369, 1883-1891.

Opbevaring og holdbarhed

Flexicult™ SSI-urinkit skal opbevares i køleskab (ca. 2 - 8 °C). For at beskytte agarpladerne mod lys tages disse først ud af kartonemballagen umiddelbart inden brug. Sidste anvendelsesdato er angivet på kartonemballagens etiket og printet på bunden af pladen.

Bortskaffelse

Brugte Flexicult™ SSI-urinkit er infektiøst materiale, og skal håndteres som andet smittefarligt affald.

Flexicult™ SSI-urinkit varenummer: 41005 á 12 stk.

Information

Yderligere information eller aftale om besøg kan fås ved henvendelse til Aase Meyer:

T 4829 9135

M 4085 3235

@ aam@ssidiagnostica.com

SSI Diagnostica A/S
2 Herredsvejen
3400 Hillerød
Denmark

T +45 4829 9100
F +45 4829 9179
@ ssidiagnostica@ssidiagnostica.com
w ssidiagnostica.com