Mikrobiologisk diagnostik i almen praksis – en praktisk vejledning

- Urinvejsinfektioner
- Fluor vaginalis

Tove Højbjerg
Kirsten Inger Paulsen
Peter Bystrup

Udarbejdet af:
Overlæge, Tove Højbjerg
Klinisk Mikrobiologisk Afdeling (KMA),
Aalborg Sygehus og

Afdelingsbioanalytiker, Kirsten Inger Paulsen
Klinisk Mikrobiologisk Afdeling (KMA),
Aalborg Sygehus og

Praktiserende læge, Peter Bystrup, Nordjylland

Layout og tryk er sponseret af LEO Pharma Nordic
November 2010.

Indhold

Baggrund 5
Definitioner 5
Diagnostik 5
Prøvetagning 6
Opbevaring og forsendelse 7
Stiksundersøgelse 7
Nitritstiks 7
Leukocytstiks 7
Aflæsning af stiks 8
Tolkning af stiksundersøgelse 8
Mikroskopi 8
Skema til tolkning af mikroskopi 9
Dyrkning 10
Dipslides 10
CLED (Cystein-Lactose-Electrolyte-Deficient) agar (dipslidens blågrønne side) 10
MacConkey agar (dipslidens røde side) 10
E. coli agar (farveløs agar) 11
Opbevaring 11
Tilsåning 11
Aflæsning 12
Flow chart til aflæsning af dipslide 14
Plademedier 14
Flexicult™ 15
Tilsåning af Flexicult™ 15
Aflæsning af Flexicult™ 16
Kromogen agar plade 16
Tilsåning af kromogen agar plade 17
Aflæsning af kromogen agar plade 18
Resistensbestemmelse 19
Plademedium 19
Dipslide (Sensicult®) 20
Antibiotika-tabletter og -disks 20
Skema over antibiotika-tabletter og -disks 20
Tilsåning 21
Tilsåning af plademedium 21
Tilsåning af dipslide (Sensicult®) 21
Aflæsning af resistensbestemmelse 22
Fejlkilder og faldgruber 32
Kvalitetssikring 34
Fluor vaginalis 39

Baggrund

Urinvejsinfektion (UVI) er årsag til 2–5% af alle henvendelser i almen praksis. Patienterne henvender sig med symptomer i form af dysuri og pollakisuri, evt. med feber og lændesmerter. Diagnosen hviler på påvisning af signifikant bakteriuri, og kan stilles ved typisk anamnese, stiksundersøgelse, mikroskopi og dyrkning, evt. i kombination med resistensbestemmelse. UVI forårsages af *E. coli* (70–80%), andre enterobakterier (5–10%), enterokokker (5–10%), *Staphylococcus saprophyticus* (5–10%) og *Pseudomonas aeruginosa* (< 2%).

Definitioner

Ved håndtering af patienter med UVI må der skelnes mellem ukompliceret UVI (akut ukompliceret cystitis) og kompliceret UVI. Asymptomatisk bakteriuri er ikke UVI, og skal normalt ikke behandles, hvorfor der heller ikke skal undersøges herfor. En vigtig undtagelse er gravide, som altid skal behandles for asymptomatisk bakteriuri.

Akut ukompliceret cystitis ses udelukkende hos ikke-gravide kvinder i den fertile alder.

Kompliceret UVI betegner alle andre UVI, dvs.

- UVI hos børn, mænd og postmenopausale kvinder
- UVI i forbindelse med sten eller afløbshindringer
- UVI hos gravide
- Recidiverende UVI
- Akut pyelonefritis

Diagnostik

Ved ukompliceret cystitis kan diagnosen stilles ved typisk klinik samt **mikroskopi og/eller stiks**, der påviser leukocytesterase og nitrit. For både mikroskopi og stiks-undersøgelse gælder, at der er både falsk positive og falsk negative resultater.

Ved kompliceret UVI bør der ud over ovenstående som minimum foretages dyrkning og resistensbestemmelse, men der anbefales også identifikation af isolerede bakterier.

Dyrkning kan ske ved kvantitativ dyrkning i Klinisk Mikrobiologisk

Afdeling (KMA) eller ved dyrkning på dipslide eller plademedium i praksis. I tilfælde af akut ukompliceret cystitis med symptomer (smerter ved vandladning, hyppig vandladning og smerter over symfysen) og leukocyturi, bør signifikansgrænsen for *E. coli* og *Staphylococcus saprophyticus* sænkes fra ≥ 10^5 bakterier pr. ml til ≥ 10^3 bakterier pr. ml.

Resistensundersøgelse kan foregå i KMA eller i praksis ved resistensbestemmelse på dipslide eller plademedium.

Identifikation foregår som regel i KMA, men visse dyrkningssystemer til anvendelse i praksis giver mulighed for at identificere *E. coli.*, *Proteus* og enterokokker.

I det efterfølgende gennemgås de forskellige metoder, der udføres i praksis, og der gives vejledning i korrekt udførelse af disse. Laboratorieundersøgelser som ovenfor anført bør kvalitetssikres. Der henvises til afsnittet om kvalitetssikring side 34.

Prøvetagning

Det er bedst at opsamle morgenurin. Alternativt kan undersøges urin opsamlet mindst 2 timer efter sidste vandladning. Det vil ofte være mest praktisk, at urinprøven opsamles i konsultationen. Herved fås en frisk urinprøve, der kan undersøges straks.

Afvaskning spiller ikke nogen væsentlig rolle for prøvens kvalitet. Vigtigt er midtstråleprincippet for at undgå tilblanding af bakterier fra urethralåbningen. Patienten lader en portion urin i toiletkummen for at skylle urethra. Herefter opsamles 10–20 ml urin i et rent engangsbæger. Patienten færdiggør vandladningen i toiletkummen. Kvinder kan med fordel sidde omvendt på toilettet med ansigtet mod væggen. Herved adskilles labiae uden brug af hænderne, og tilblanding af vaginalflora mindskes.

Opbevaring og forsendelse

Prøven skal helst undersøges straks. Såfremt den ikke undersøges straks, skal den opbevares i køleskab ved 5°C.

Forsendelse af ukølet urin til dyrkning og resistensbestemmelse i KMA kan ske i urinprøveglas tilsat borsyre (borsyreglas), der rekvireres fra Indkøbskontoret Aalborg Sygehus med **varenummer 470845**. Borsyre virker ved at tillade overlevelse af bakterier og samtidig hindre yderligere vækst.

Det er vigtigt, at mængden af urin i borsyreglasset er korrekt. Koncentrationen af borsyre i glasset er afstemt til ca. 10 ml. For lille mængde urin medfører for høj koncentration af borsyre, således at Gram-positive kokker vil gå til grunde og prøven give falsk negativt resultat. Urin i borsyreglas bør udsås inden for 48 timer, idet antallet af Gram-positive kokker reduceres ved henstand ud over 2 døgn.

En praktisk fremgangsmåde er at dyrke urinen kombineret med resistensbestemmelse. Resistensbestemmelse bør aldrig stå alene, men bør altid forudgås eller ledsages af dyrkning. Når urin sættes til dyrkning evt. kombineret med resistensbestemmelse, gemmes resten af urinen i køleskab. I tilfælde af vækst hvor der ønskes resistensbestemmelse eller ved tvivl om aflæsning af resistens-bestemmelse, opsuges urinprøven i borsyreglas og fremsendes til KMA i godkendt emballage.

Stiksundersøgelse

Nitritstiks

Nitratreducerende bakterier omdanner nitrat til nitrit, som kan påvises med stiks. Reaktionen kræver imidlertid, at urinen har stået mindst 2 timer i blæren, så bakterierne har nået at omdanne nitrat fra protein i føden til nitrit. Nitritstiksen kan derfor være negativ hos patienter, som for nylig har ladt vandet. Gram-positive kokker (enterokokker og stafylokokker) reducerer ikke nitrat, og infektioner med disse bakterier giver således ikke positiv nitrit-stiks.

Leukocytstiks

Ved urinvejsinfektion findes betændelsesreaktion med forekomst af leukocytter. Disse kan ses ved mikroskopi, men også påvises med stiks. Stiksen påviser enzymet leukocytesterase, som findes i leukocytter. Man må huske, at der kan findes leukocytter i urin

af andre årsager end UVI, f.eks. som følge af Chlamydiainfektion i urethra eller cervix, blæresten, tumor, kemisk irritation etc.

Aflæsning af stiks

Aflæsning af stiks kan ske både visuelt og maskinelt. I begge tilfælde er det vigtigt at følge fabrikantens anvisninger. Især ved aflæsning af feltet for leukocytesterase er tiden en vigtig faktor. Oftest må feltet først aflæses efter 120 sekunder. For tidlig aflæsning giver falsk negative resultater. Det anbefales at bruge stopur.

Tolkning af stiksundersøgelse

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

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

Mikroskopi

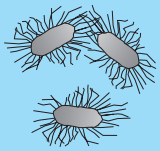
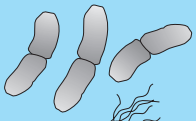
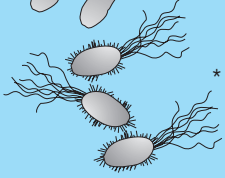
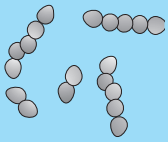
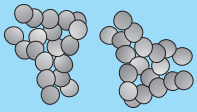
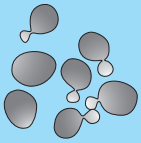
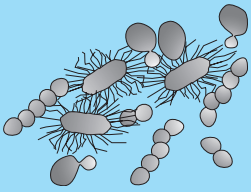
Der anvendes altid friskladt ucentrifugeret urin. Prøveglasset vendes nogle gange eller engangsbægeret roteres for at opblande urinen.

En lille dråbe urin anbringes midt på et objektglas ved hjælp af et hårrør, og der lægges dækglas på. Mikroskoperes straks ved 400 gange forstørrelse (objektiv x 40 og okular x 10) med fasekontrast mikroskop. I fasekontrast mikroskopet fremstår bakterier og svampe som mørke skygger på en lys baggrund. Man kan se levende bakterier bevæge sig.

≥ 1 bakterie pr. synsfelt svarer til ≥ 10^5 bakterier pr. ml. Bakteriemængder < 10^5 bakterier pr. ml vil i over halvdelen af tilfældene ikke findes ved mikroskopi. Bakteriemængder < 10^3 bakterier pr. ml kan ikke påvises ved mikroskopi. Der bør gennemses 10–15 synsfelter før en prøve kaldes negativ. Det bemærkes endvidere, om der er leukocytter tilstede i urinen. Leukocytter går i de fleste tilfælde til grunde i urin i løbet af en time efter prøvetagning.

Ved fund af bakterier vurderes morfologi (stave, kokker eller blandet flora) og for stavenes vedkommende, om de er bevægelige, og evt. hvordan de bevæger sig (peritrikt eller polært). Kokker er ubevægelige.

Skema til tolkning af mikroskopi

Morfologi ** Bakteriernes flageller (svingtråde) ses ikke ved mikroskopi*	**Eksempler på bakterieart**	**Naturligt resistensmønster** (resistens kan dog udvikles for et eller flere stoffer)
Peritrikt bevægelig stav (tumler, slår kolbøtter)  *	*E. coli*	Følsom for sulfonamid, ampicillin og mecillinam
Ubevægelig stav 	*Klebsiella*	Følsom for sulfonamid og mecillinam, altid resistent for ampicillin
Polært bevægelig stav (hurtige bevægelser i lige linie som en raket eller en skøjteløber)  *	*Pseudomonas*	Resistent for de almindelige perorale antibiotika, ses ofte ved afløbshindring, blærekateter eller kompliceret UVI.
Kokker i kæde (kokker bevæger sig ikke) 	Enterokokker	Følsom for ampicillin og nitrofurantoin, intermediært følsom for trimetoprim, altid resistent for sulfonamid og mecillinam.
Kokker i hobe Meget små, ligner næsten »grums« (kokker bevæger sig ikke) 	Stafylokokker	Følsom for sulfonamid, altid resistent for mecillinam, de fleste stammer har erhvervet resistens for ampicillin.
Gærceller meget større end bakterier, evt. med knopskydning (gærceller bevæger sig ikke) 	*Candida* arter	Resistent for antibiotika, ses ved blærekateter og afløbshindring, kan være slutresultat af talrige antibiotikakure
Stave, kokker og evt. gærceller  *	Blandingsflora Tilblanding	Ses ved blærekateter og afløbshindring Dårlig prøvetagning med tilblanding af bakterier fra hud eller slimhinder

Dyrkning

Dipslides

Der findes adskillige dipslides fra forskellige firmaer. Fælles for dem er, at de består af en rektangulær plade beklædt på begge sider med dyrkningsmedier i form af 2–3 forskellige agarmedier.

CLED (Cystein-Lactose-Electrolyte-Deficient) agar (dipslidens blågrønne side)
Ikke-selektiv agar indeholdende laktose. Tillader vækst af næsten alle typer bakterier, både urinvejspatogene bakterier og bakterier, der stammer fra forurening fra hud og slimhinder. Laktoseforgærende bakterier som *E. coli* og *Klebsiella* ændrer substratets blågrønne farve til gul *(Fig. 1)*. Manglende farveskift kan skyldes vækst af ikke laktoseforgærende bakterier som *Proteus* og *Pseudomonas*.

Fig. 1: CLED agar med laktoseforgærende *E. coli*.

MacConkey agar (dipslidens røde side)
Selektiv agar indeholdende laktose og galdesalte. Sidstnævnte virker hæmmende på væksten af Gram-positive bakterier. Tillader vækst af Gram-negative stave og kun i mindre grad enterokokker. Laktoseforgærende Gram-negative stave vokser med stærkt røde til violette kolonier *(Fig. 2)*. Ikke laktoseforgærende Gram-negative stave vokser med farveløse kolonier. De fleste Gram-positive kokker vokser ikke eller kun meget svagt.

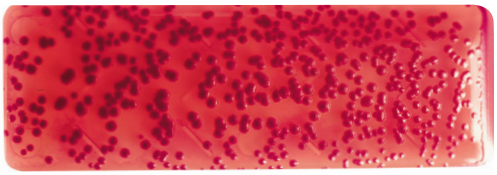


Fig. 2: MacConkey agar med laktoseforgærende *E. coli*.

***E. coli* agar** (farveløs agar)

Selektiv, kromogen agar, som påviser enzymet betaglucuronidase. Dette enzym findes hos ca. 95% af alle *E. coli* stammer og er yderst sjældent forekommende hos andre Gram-negative stave. *E. coli* vokser med farvede kolonier (brune til sorte, blå eller gule, afhængig af fabrikat) *(Fig. 3)*. Andre Gram-negative stave vokser med farveløse kolonier. Gram-positive kokker vokser ikke eller kun meget svagt.

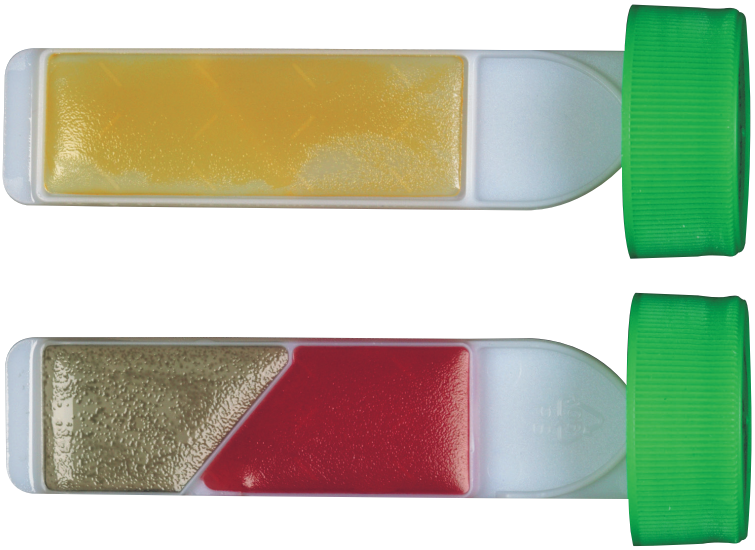


Fig. 3: E. coli på CLED agar, *E. coli* agar (sorte kolonier) og MacConkey agar.

Opbevaring

Dipslide opbevares ved stuetemperatur i originalpakning, som beskytter mod lys. Må ikke anvendes efter udløbsdato. I øvrigt henvises til fabrikantens anvisninger.

Tilsåning

Påsæt dipsliden patientidentifikation. Uringlasset vendes et par gange, eller urinbægeret roteres for at opblande urinen. Skru dipsliden ud af røret uden at berøre agarfladerne. Sliden dyppes i urin, således at begge agar flader dækkes *(Fig. 4)*. Ved utilstrækkelig mængde urin holdes dipsliden vandret, og der tilsættes mindst 6 dråber urin på den opadvendte flade, som herefter vugges forsigtigt, indtil hele overfladen er fugtet. Samme procedure gentages på den anden side.

Fig. 4: Tilsåning af dipslide.

Overskydende urin løber af dipsliden ved at placere den nederste kant på bægerets kant. De sidste dråber fjernes ved at placere dipslidens nederste kant på et stykke sugende papir.

Dipsliden skrues tilbage i røret og inkuberes i varmeskab, med skruelåget opad, ved 35°C til næste dag. Kan evt. efterlades på bordet ved stuetemperatur i weekends og bør ved manglende vækst herefter inkuberes i varmeskab ved 35°C til næste dag.

Aflæsning

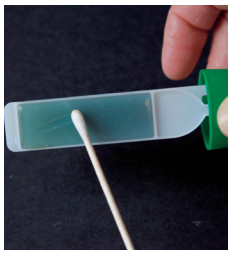


Fig. 5:

Der henvises til fabrikantens modelkort. Man bedømmer både vækstgrad (mængden af bakterier) og arten af bakterier (renkultur eller blanding, Gram-negative stave eller Gram-positive kokker, laktoseforgærende eller ikke laktoseforgærende).

Tæt vækst af fx *Proteus* kan erfaringsmæssigt være svært at erkende. Derfor bør man altid skrabe lidt i agarfladen fx med en vatpind, før en prøve kaldes negativ, se *(Fig. 5)*.

Sammenflydende eller næsten sammenflydende vækst svarer til 10^5–10^7 bakterier pr. ml urin *(Fig. 6)*. Spredt vækst svarer til 10^3–10^4 bakterier pr. ml urin *(Fig. 7)*.

Fig. 6: CLED agar med ca. 10^7 *Klebsiella* pr. ml.

Fig. 7: CLED agar med ca. 10^3 *Klebsiella* pr. ml.

Tæt ensartet vækst på både CLED agar og MacConkey agar tyder på signifikant vækst af Gram-negative stave. CLED agar gul tyder på *E. coli* eller *Klebsiella (Fig. 8)*. CLED agar blågrøn tyder på *Proteus* eller *Pseudomonas*.

Fig. 8: CLED agar (til venstre) og MacConkey agar (til højre) med vækst af ***E. coli***.

Tæt ensartet vækst på CLED agar og ingen vækst på MacConkey agar *(Fig. 9)* tyder på signifikant vækst af Gram-positive kokker (streptokokker eller stafylokokker).

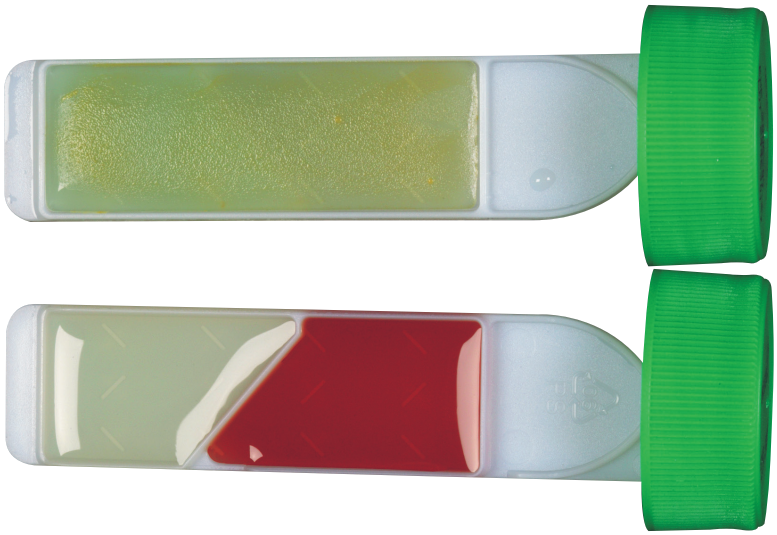


Fig. 9: Vækst af stafylokokker på CLED agar, ingen vækst på MacConkey agar og ***E. coli*** agar.

Tæt broget vækst på både CLED agar og MacConkey agar tyder på blandingsflora *(Fig. 10)*.

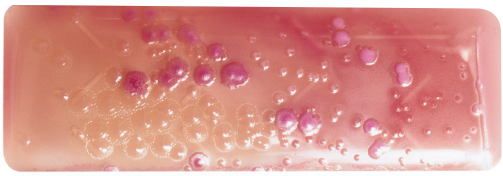


Fig. 10: MacConkey agar med vækst af blandingsflora.

Spredt broget vækst på CLED agar tyder på tilblanding fra hud og slimhinder *(Fig. 11)*.

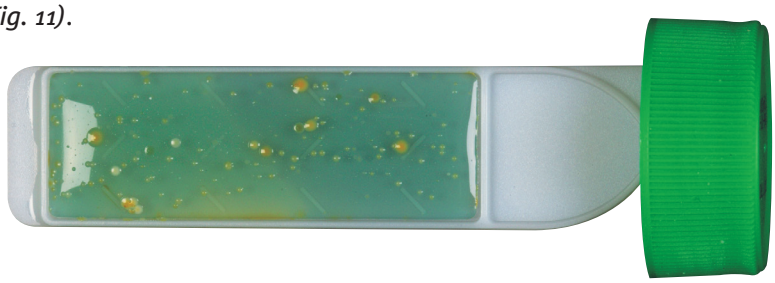
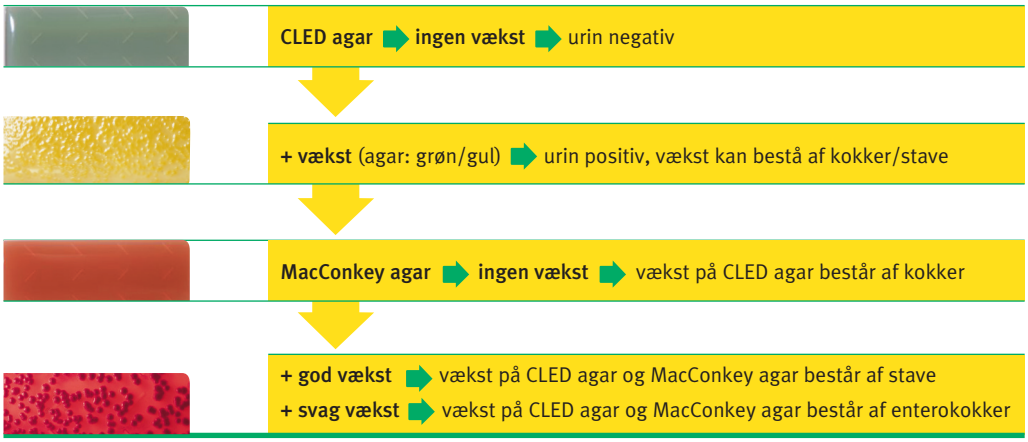


Fig. 11: CLED agar med vækst af tilblanding fra hud og slimhinder.

Flow chart til aflæsning af dipslide



Plademedier

Flexicult™

Flexicult™ er udformet som en agarplade inddelt i felter, og den kan anvendes både til kvantitativ dyrkning og resistensbestemmelse. Der er et stort felt til kvantitering af bakterievæksten og 5 mindre felter med hvert sit antibiotikum: trimetoprim, sulfamethizol, ampicillin, nitrofurantoin og mecillinam. Rækkefølgen af antibiotika fremgår af fabrikantens modelkort. Agaren er tilsat forskellige kromogener, der påviser forskellige bakterielle enzymer ved hjælp af farveskift.

Der er således mulighed for direkte identifikation af *E. coli* og enterokokker samtidig med, at andre bakteriearter optræder med andre farver. *(Fig. 12)*.

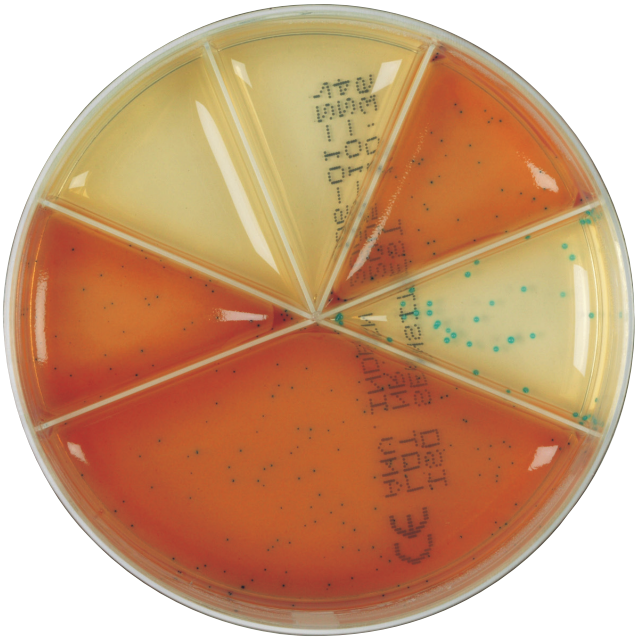


Fig. 12: Rød vækst: > 10^5 ***E. coli*** pr. ml. Blå vækst: ca. 10^4 enterokokker pr. ml.

Opbevaring

Flexicult™ skal opbevares i køleskab og bør først tages ud af kartonemballagen umiddelbart inden brug. Må ikke anvendes efter udløbsdato. Må ikke anvendes, hvis agaren er skrumpet eller indtørret.

Tilsåning af Flexicult™

Først vendes uringlasset et par gange, eller urinbægeret roteres for at opblande urinen. Urinprøven hældes kortvarigt (1–2 sekunder) over pladen, der vippes, så urinen kommer i kontakt med hele pladen.

Overskydende urin hældes fra. Pladen inkuberes med låget nedad ved 35°C til næste dag.

Aflæsning af Flexicult™

Aflæsning af **dyrkningen** sker i det store felt ved bedømmelse af **vækstgraden** (mængden af bakterier) og **arten** af bakterier (renkultur eller blanding). Mængden af bakterier vurderes ud fra fabrikantens modelkort. Arten af bakterier vurderes ud fra bakteriekoloniernes farve, der sammenlignes med fabrikantens modelkort.

Til aflæsning af **resistensbestemmelse** undersøges de 5 antibiotikafelter for vækst. Er der vækst i kontrolfeltet, men ikke i antibiotikafeltet, er stammen følsom for det pågældende antibiotikum. Er der vækst i et antibiotikafelt, er bakterien resistent for det pågældende antibiotikum.

Kromogen agar plade

Der findes flere forskellige kromogene agarplader.

Kromogen agar påviser forskellige bakterielle enzymer ved hjælp af farveskift. Der er således mulighed for direkte identifikation af *E. coli*, *Proteus* og enterokokker, samtidig med at andre bakteriearter vil optræde med forskellige farver *(Fig. 13)*.

Opbevaring

Kromogene plader skal opbevares i køleskab og bør først tages ud af kartonemballagen umiddelbart inden brug. Må ikke anvendes efter udløbsdato. Må ikke anvendes, hvis agaren er skrumpet eller indtørret.

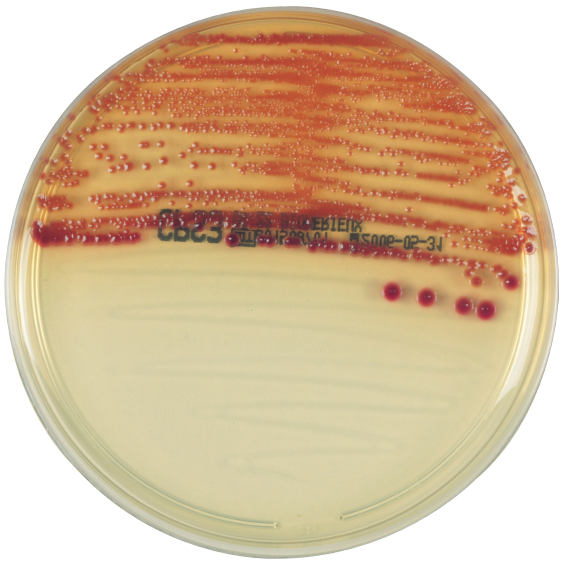


Fig. 13: Kromogen agar med vækst af > 10^5 *E. coli* pr. ml.

Tilsåning af kromogen agar plade

Først vendes uringlasset et par gange, eller urinbægeret roteres for at opblande urinen. Pladen tilsås med 10 µl urin vha. standardiseret engangs-øjenål. Urinen afsættes i en stribe 1/3 ned over pladen *(Fig. 14a)*, hvorefter der spredes med jævne strøg vinkelret på striben ned over hele pladen *(Fig. 14b)*.

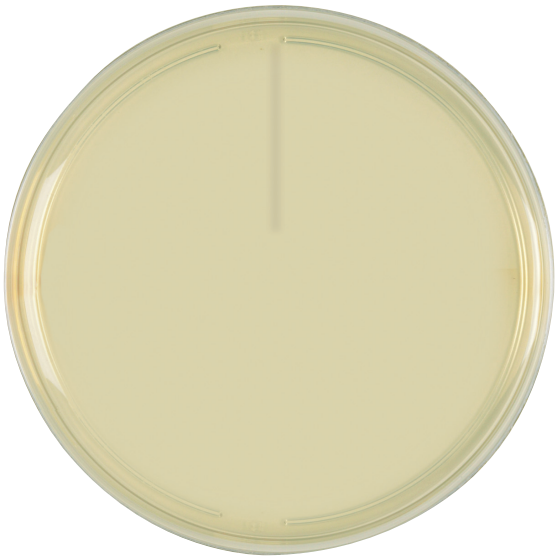


Fig. 14a: Tilsåning af kromogen agar. Urinen afsættes i en stribe 1/3 ned over pladen.

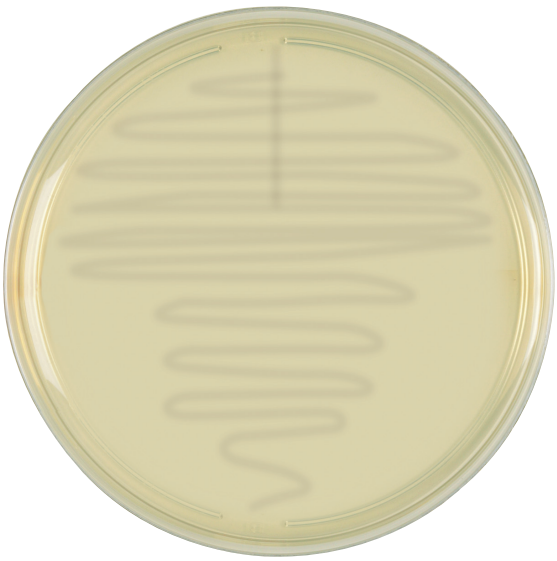


Fig. 14b: Der spredes med jævne strøg vinkelret på striben ned over hele pladen.

Aflæsning af kromogen agar plade

Der henvises til fabrikantens modelkort. Man bedømmer både vækstgrad (mængden af bakterier) og arten af bakterier (renkultur eller blanding).

Vækstgraden bedømmes ved at tælle/vurdere antallet af bakteriekolonier på pladen *(Fig. 15)*. Herefter omregnes til bakterier pr. ml urin. Se skema.

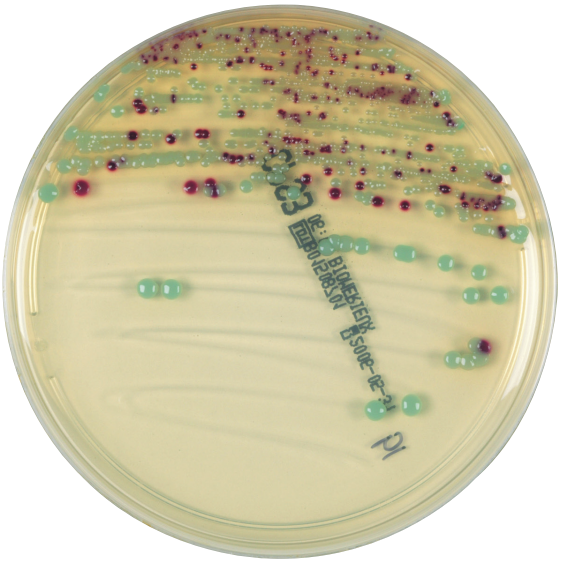


Fig. 15: Grøn vækst: 10^4–10^5 *Klebsiella* pr. ml. Rød vækst: 10^3–10^4 ***E. coli*** pr. ml.

Vækstgrad

10 µl urin – antal kolonier	Antal bakterier/ml
0	< 10^2/ml
1–10	10^2–10^3/ml
ca 10	ca 10^3/ml
10–100	10^3–10^4/ml
ca.100	ca.10^4/ml
100–1000	10^4–10^5/ml
ca.1000	ca.10^5/ml
> 1000	> 10^5/ml

Resistensbestemmelse

Resistensbestemmelse bør aldrig stå alene, men bør altid forudgås eller ledsages af dyrkning. Resistensbestemmelse skal foregå under kontrollerede omstændigheder, idet faktorer som sammensætning af resistensagar, agartykkelse, inkubationstemperatur, inkubationstid og bakterietæthed influerer stærkt på resultatet.

Der anbefales konfluerende (sammenflydende) vækst, antibiotikastyrker og zonestørrelser som anført af EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Det er derfor vigtigt at overholde gældende regler for opbevaring, udløbsdato, varmeskabskontrol og tilsåning for at opnå retvisende resultater.

I de tilfælde, hvor resistensbestemmelse findes indiceret, vil det være relevant at resistensbestemme for sulfonamid, ampicillin, mecillinam, trimetoprim og nitrofurantoin. Det frarådes at resistensbestemme for ciprofloxacin, da mutationer med nedsat følsomhed ikke kan detekteres ved anvendelse af ciprofloxacin-tabletter /disks. Derimod kan det beslægtede nalidixan anvendes. Nalidixan-følsomme stammer kan i almindelighed anses for at være ciprofloxacin-følsomme, og nalidixan-resistente stammer anses for at være nedsat følsomme eller resistente for ciprofloxacin. Ciprofloxacin er ikke effektivt til Gram-positive kokker (stafylokokker og streptokokker).

Tolkning af resistensbestemmelse er afhængig af bakteriens art. Det anbefales derfor at anvende en kromogen agar til dyrkning, da man herved får et fingerpeg om bakteriens art.

Det er muligt at anvende enten plademedium beregnet til resistensbestemmelse, dipslide beregnet til resistensbestemmelse eller Flexicult™ *(se side 14-16 vedr.* Flexicult™ *).*

Plademedium

- Til resistensbestemmelse anbefales Mueller Hinton agar.

Plademedier opbevares i henhold til fabrikantens henvisninger. Skal altid anvendes inden udløbsdato. Hvis pladerne opbevares uhensigtsmæssigt kan der ske en fordampning, så agartykkelsen formindskes. Dette kan medføre fejlagtig resistensbestemmelse.

Dipslide til resistensbestemmelse

Dipslide beklædt på begge sider med modificeret Mueller Hinton agar beregnet til resistensbestemmelse. Opbevares i henhold til fabrikantens anvisninger. Skal altid anvendes inden udløbsdato. Hvis dipslides opbevares uhensigtsmæssigt kan der ske en fordampning, så agartykkelsen formindskes. Dette kan medføre fejlagtig resistensbestemmelse.

Antibiotika-tabletter og -disks

Følgende antibiotika-tabletter og disks anvendes:

- **Neo-Sensitabs® fra Rosco:**
  9 mm tablet, der indeholder antibiotika af en given koncentration. Skal opbevares ved stuetemperatur. Revnede og knuste tabletter må ikke anvendes. Skal anvendes inden udløbsdato. Er efter åbning holdbare i 12 måneder.

- **Disks fra Oxoid:**
  Lapper af filtrerpapir imprægneret med antibiotika af en given koncentration. Åbne pakker kan opbevares i køleskab i op til en uge. Opbevaring i længere tid skal foregå i fryser ved -20° C. For at undgå fugt på disks, skal de opnå stuetemperatur inden blisterpakken åbnes og disks anvendes. Skal tilbage i køleskab straks efter anvendelse. Anvendes inden udløbsdato. Udløbsdatoen forudsætter korrekt opbevaring.

Skema over antibiotika-tabletter og -disks

	Opbevaring	Holdbarhed efter åbning	Medium	Tæthed
Neo-Sensitabs® fra Rosco	Stuetemperatur	12 mdr.	Mueller Hinton agar	Konfluerende*
Disks fra Oxoid	Fryser - 20° C Åbne rør i køleskab	I køleskab max. 1 uge.	Mueller Hinton agar	Konfluerende*
			Dipslide til resistens-bestemmelse	

* Tæt vækst, hvor bakteriekolonierne flyder sammen (>10^6 bakterier pr. ml)

Tilsåning

Tilsåning af pladedium til resistensbestemmelse

Først vendes uringlasset et par gange eller urinbægeret roteres for at opblande urinen. Pladen tilsås med steril vatpind dyppet i den friskladte urin.

Vatpinden trykkes af mod glassets eller bægerets side for at fjerne overskydende urin.

Pladen tilsås med tætte strøg først i én retning og derefter vinkelret herpå.

Antibiotika-tabletter eller -disks anbringes med dispenser eller pincet. De gives et let tryk og må herefter ikke flyttes. Pladen inkuberes i varmeskab ved 35°C til næste dag. Resistensplader må ikke efterlades på bordet i weekends til senere aflæsning, da den langsommere vækst ved stuetemperatur kan medføre misvisende store zonestørrelser. Kan efter inkubation anbringes i køleskab til senere aflæsning.

Tilsåning af dipslide til resistensbestemmelse

Dipslide tilsås som beskrevet under dipslide side 11.

Antibiotika-disks anbringes med pincet eller kanyle på agarfladerne, højst 2 disks på hver side, ca. 1 cm fra hver agarflades ende og midt på agarfladen med lige stor afstand til agarfladens sider. Disks trykkes forsigtigt fast og må herefter ikke flyttes.

Dipslide inkuberes i varmeskab ved 35°C til næste dag. Tilsået dipslide til resistensbestemmelse må ikke efterlades på bordet i weekends til senere aflæsning, da den langsommere vækst ved stuetemperatur kan medføre misvisende store zonestørrelser. Kan efter inkubation anbringes i køleskab til senere aflæsning.

Aflæsning af resistensbestemmelse

Inden aflæsning vurderes mængden af bakterier (bakterietætheden) *(Fig. 16)* og arten af bakterier (renkultur eller blanding). Aflæsning kan ske ved hjælp af skabelon eller ved måling af zonediameter med lineal. Zonediameter måles i mm *(Fig. 17)*. Det anbefales at aflæse pladen fra bagsiden mod en sort baggrund med belysningen rettet mod pladen. Der skal aflæses til 100 % hæmning, dvs. til inderste koloni, der kan ses med det blotte øje. Tolkning af zonestørrelser sker efter fabrikantens anvisninger.

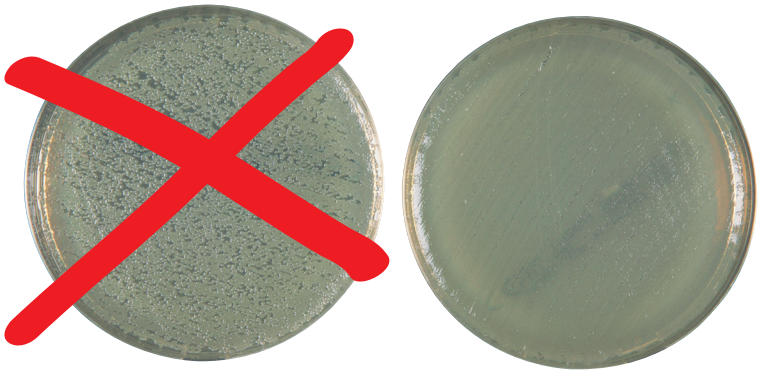


Fig. 16: Semikonfluerende vækst (venstre) og konfluerende vækst (højre plade).

Fig. 17: Aflæsning kan ske ved hjælp af skabelon eller ved måling af zonediameter med lineal. Zonediameter måles i mm.

Mueller Hinton agar med Neo-Sensitabs® fra Rosco
Tæthed: konfluerende (sammenflydende) vækst *(Fig. 18)*
Tolkning af zonestørrelse sker efter fabrikantens anvisninger.

Fig. 18: Konfluerende vækst på Mueller Hinton agar med Neo-Sensitabs® fra Rosco.

Zonestørrelser for Mueller Hinton agar med Neosensitabs® fra Rosco

Antibiotikum	Tablet betegnelse	Bemærk	Zonestørrelse i mm Konfluerende vækst	
			S = følsom	R = resistent
Trimetoprim	TRIM5		≥ 18	≤ 15
Sulfonamid	SULFA		≥ 17	< 13
Ampicillin	AMP10		≥ 17	< 14
Nitrofurantoin	NI100		≥ 15	< 15
Mecillinam	MEC10	Gælder enterobakterier Virker ikke på Grampositive kokker	≥ 15	< 15
Ciprofloxacin	CIPR5		≥ 22	< 19

Zonestørrelser angivet af Rosco

Mueller Hinton agar med disks fra Oxoid:
Tæthed: konfluerende (sammenflydende) vækst *(Fig. 19)*.
Tolkning af zonestørrelse sker efter fabrikantens anvisninger.

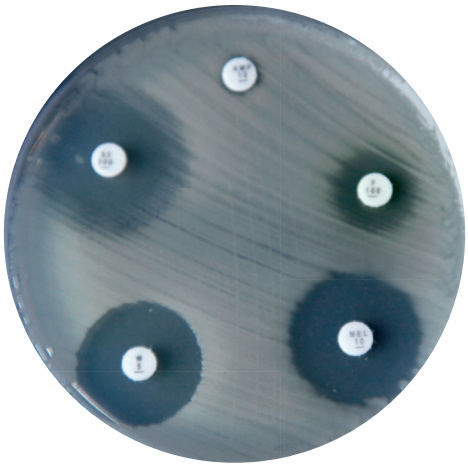


Fig. 19: Konfluerende vækst på Mueller Hinton agar med disks fra Oxoid.

Zonestørrelser for Mueller Hinton agar med disks fra Oxoid

Antibiotikum	Disk betegnelse	Bemærk	S	R
			Følsom	Resistent
Trimetoprim	W 5		≥ 18	≤ 15
Sulfonamid	S3 300		≥ 17	< 13
Ampicillin	AMP 10	Gælder enterobakterier og enterokokker	≥ 17	< 14
Nitrofurantoin	F 100	Gælder *E.coli*	≥ 11	< 11
Nitrofurantoin	F 100	Galder enterokokker og streptokokker	≥ 15	< 15
Mecillinam	MEL 10	Gælder enterobakterier Virker ikke på Gram-positive kokker	≥ 15	< 15
Ciprofloxacin	CIP 5		≥ 22	< 19

Zonestørrelser angivet af Oxoid

Dipslide til resistensbestemmelse med disks fra Oxoid:
Tæthed: sammenflydende vækst (zonestørrelserne gælder for > 10^5 bakterier/ml og < 10^7 bakterier/ml) *(Fig. 20)*. Tolkning af zonestørrelser sker efter fabrikantens anvisninger.

Fig. 20: Dipslide med disks korrekt placeret.

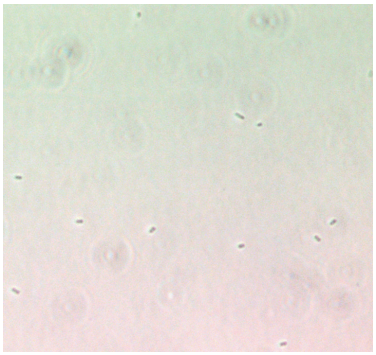
Zonestørrelser for dipslide til resistensbestemmelse med disks fra Oxoid.

Antibiotikum	Disk-betegnelse	Bemærk	Zonestørrelse i mm konfluerende vækst	
			Følsom	Resistent
Trimetoprim	W 5		> 12	< 12
Sulfonamid	S3 300		> 12	< 12
Nitrofurantoin	F 100		> 12	< 12
Ampicillin	AMP 10		> 12	< 12
Mecillinam	MEL 10	Disse antibiotika virker ikke på Gram-positive kokker	> 12	< 12
Ciprofloxacin	CIP 10		> 22	< 22

Zonestørrelser angivet af Orion

E. coli

E. coli i fasekontrast mikroskopi med 400 ganges forstørrelse.



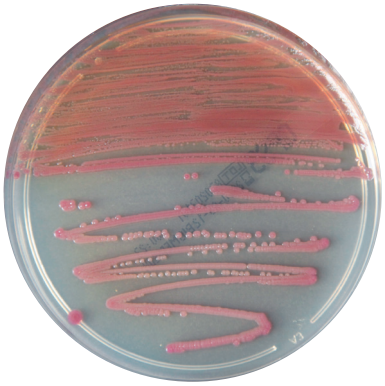


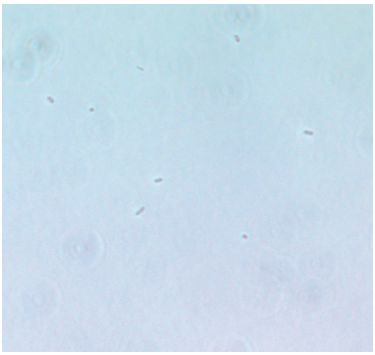
Fig. 21: Kromogen agar tilsået med 10 µL urin med >10^5 *E. coli.*

Fig. 22: Mueller Hinton agar med antibiotikatabletter. Sammenflydende vækst af *E. coli.* Resistent for ampicillin. Ca. 40% af *E. coli* i Danmark er ampicillinresistente.

Fig. 23: Mueller Hinton agar med antibiotikadisks. Sammenflydende vækst af *E. coli.* Resistent for ampicillin. Ca. 40% af *E. coli* i Danmark er ampicillinresistente.

Fig. 24: Flexicult™ med ca. 10^5 *E. coli.* Resistent for sulfamethizol og ampicillin.

Klebsiella



Klebsiella i fasekontrast mikroskopi med 400 ganges forstørrelse.

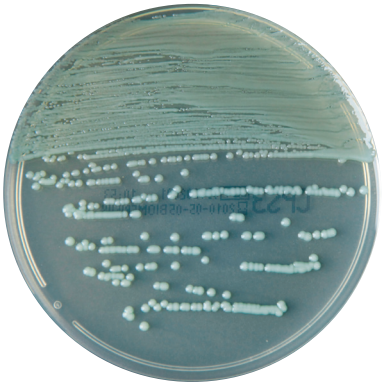


Fig. 25: Kromogen agar tilsået med 10 µL urin med >10^5 *Klebsiella*.

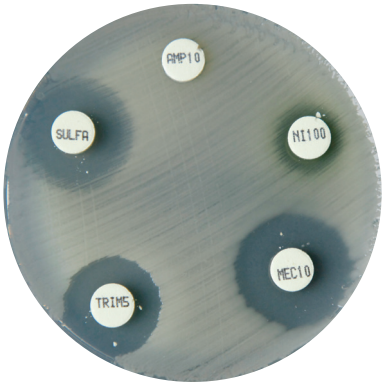


Fig. 26: Mueller Hinton agar med antibiotikatabletter. Sammenflydende vækst af *Klebsiella*. Resistent for ampicillin og nitrofurantoin.

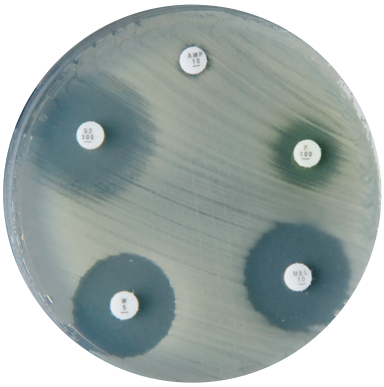


Fig. 27: Mueller Hinton agar med antibiotikadisks. Sammenflydende vækst af *Klebsiella*. Resistent for ampicillin og nitrofurantoin.

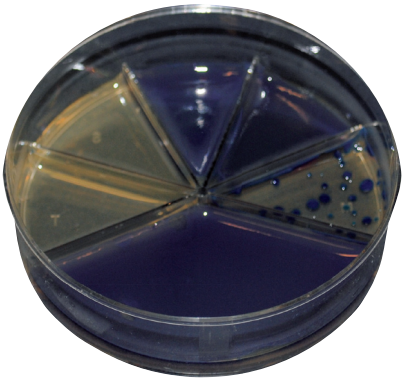


Fig. 28: Flexicult™ med 10^5 *Klebsiella*. Resistent for ampicillin og nitrofurantoin. Enkelte kolonier i mecillinamfeltet er ikke udtryk for resistens.

Proteus

Proteus i fasekontrast mikroskopi med 400 ganges forstørrelse.

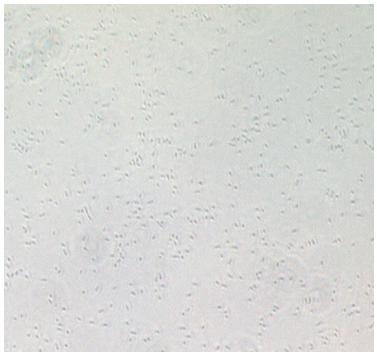


Fig. 29: Kromogen agar tilsået med 10 µL urin med >10^5 *Proteus*.

Fig. 30: Mueller Hinton agar med antibiotikatabletter. Sammenflydende vækst af *Proteus*. Resistent for nitrofurantoin.

Fig. 31: Mueller Hinton agar med antibiotikadisks. Sammenflydende vækst af *Proteus*. Resistent for nitrofurantoin.

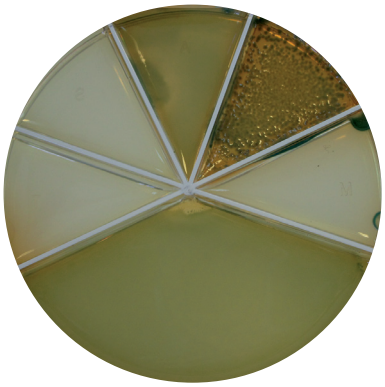
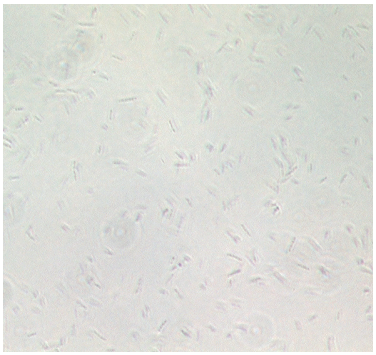


Fig. 32: Flexicult™ med >10^5 *Proteus.* Resistent for ampicillin og nitrofurantoin.

Pseudomonas



Pseudomonas i fasekontrast mikroskopi med 400 ganges forstørrelse.

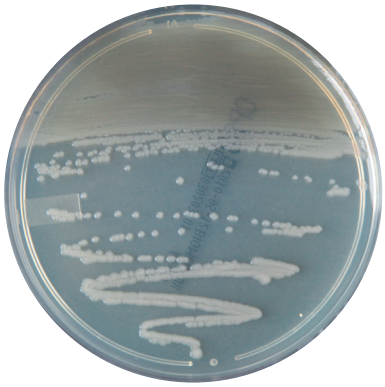


Fig. 33: Kromogen agar tilsået med 10 µL urin med >10^5 *Pseudomonas*.

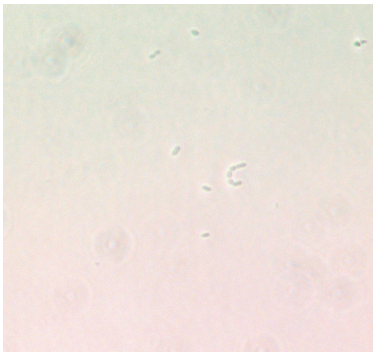
Fig. 34: Mueller Hinton agar med antibiotikatabletter. Sammenflydende vækst af *Pseudomonas*. Resistent for samtlige antibiotika.

Fig. 35: Mueller Hinton agar med antibiotikadisks. Sammenflydende vækst af *Pseudomonas*. Resistent for samtlige antibiotika.

Fig. 36: Flexicult™ med >10^5 *Pseudomonas*. Resistent for samtlige antibiotika.

Enterokokker

Enterokokker i fasekontrast mikroskopi med 400 ganges forstørrelse.



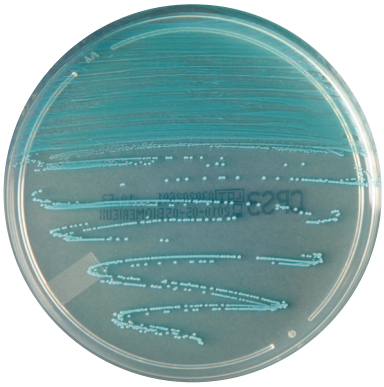


Fig. 37: Kromogen agar tilsået med 10 µL urin med $>10^5$ enterokokker.

Fig. 38: Mueller Hinton agar med antibiotikatabletter. Sammenflydende vækst af enterokokker. Resistent for sulfametizol og mecillinam.

Fig. 39: Mueller Hinton agar med antibiotikadisks. Sammenflydende vækst af enterokokker. Resistent for sulfametizol og mecillinam.

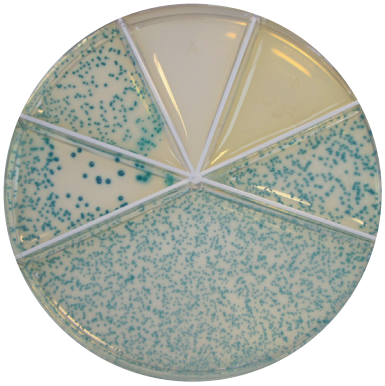
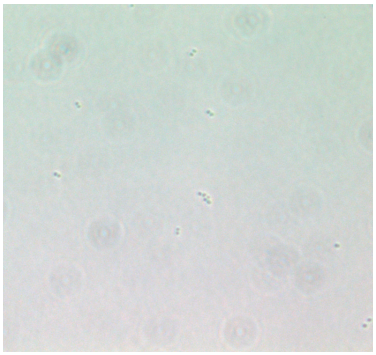


Fig. 40: Flexicult™ med ca. 10^5 enterokokker. Resistent for trimetoprim, mecillinam og sulfamethizol.

Stafylokokker



Stafylokokker i fasekontrast mikroskopi med 400 ganges forstørrelse.

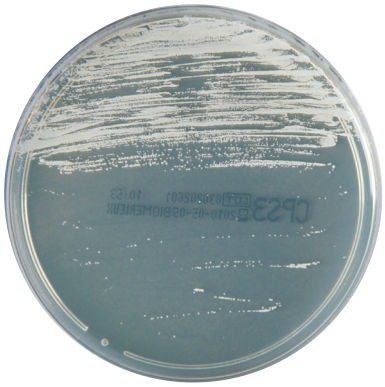


Fig. 41: Kromogen agar tilsået med 10 µL urin med >10^5 stafylokokker.

Fig. 42: Mueller Hinton agar med antibiotikatabletter. Sammenflydende vækst af stafylokker. Resistent for mecillinam.

Fig. 43: Mueller Hinton agar med antibiotikadisks. Sammenflydende vækst af stafylokokker. Resistent for mecillinam.

Fig. 44: Flexicult™ med >10^5 stafylokokker (***S. saprophyticus)***. Følsom til samtlige antibiotika. Mecillinam bør ikke anvendes til Gram-positive kokker.

Fejlkilder og faldgruber

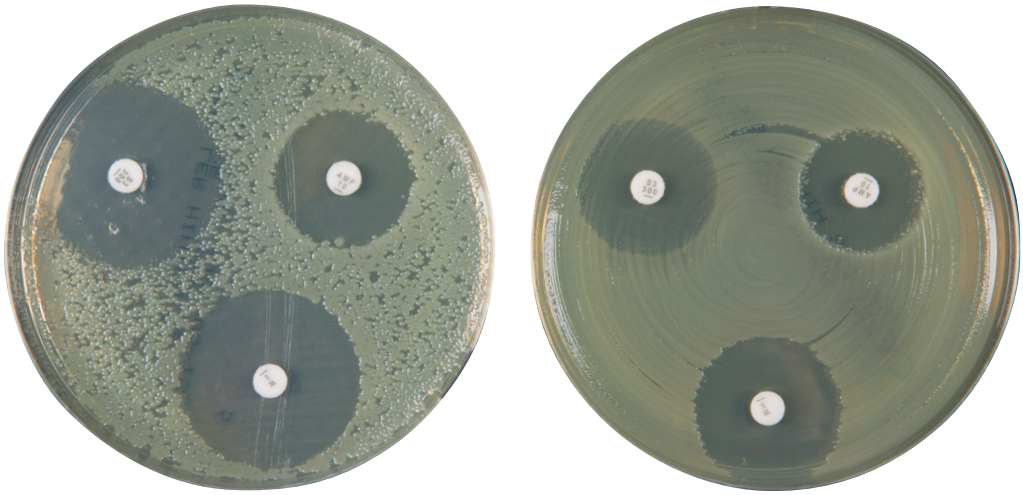


Fig. 45: To plader tilsået med samme bakterie, men med forskellig tæthed. Bemærk forskel i zonestørrelse. For tynd vækst giver for store zoner.

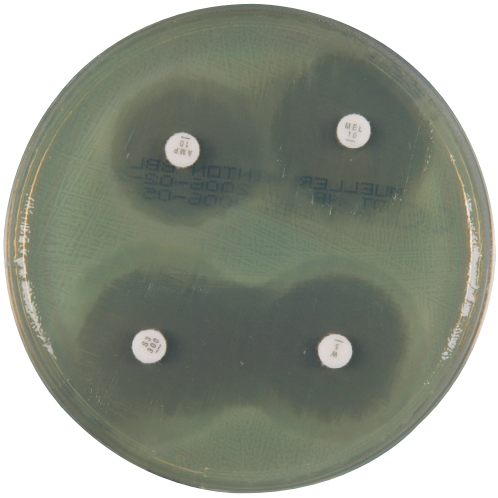


Fig. 46: Ved vækst af sværmende *Proteus*, må sværm ind i hæmningszonen ikke tolkes som resistens.

Fig. 47: Ved måling af hæmningszonen ses bort fra sværm ind i zonen.

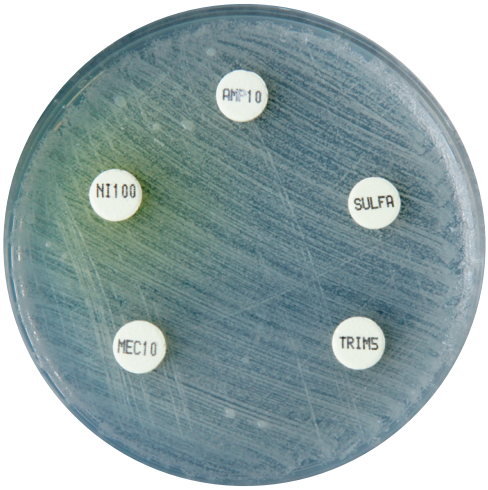


Fig. 48: Gærsvampe vokser ind til samtlige antibiotika.

Fig. 49: Ved vækst af én bakterieart i stor mængde, skal enkelte kolonier i hæmningszonen af en anden slags bakterie oftest betragtes som tilblanding.

Fig. 50: Klebsiella kan vokse med meget mucoide (slimede) kolonier som kan flyde ind i hæmningszonerne. Dette må ikke tolkes som resistens.

Fig. 51: For mange disks/tabletter og forkert placering af disse kan hindre aflæsning af hæmningszoner.

Kvalitetssikring af urinanalyser

En forudsætning for udførelse af mikrobiologisk undersøgelse af urin i almen praksis er, at kvaliteten sikres.

I landsoverenskomsten vedrørende almen praksis anføres i protokollat til § 75:
"Der oprettes en laboratoriekonsulentordning, fx med tilknytning til sygehusvæsenets laboratorium/klinisk-kemiske afdeling eller andre medicinske laboratorier. Læger, der i egen klinik ønsker at udføre laboratorieundersøgelser omfattet af kvalitetssikringsordningen, skal tilmeldes ordningen for at kunne udføre laboratorieundersøgelser for regionens regning. Indtil Samarbejdsudvalget har aftalt, hvilke laboratorieundersøgelser, der skal omfattes af regionens kvalitetssikringsordning, er lægerne berettiget til at udføre samtlige de i § 75 angivne laboratorieundersøgelser på sædvanlig vis."

I Region Nordjylland er der oprettet en laboratoriekonsulentordning (LKO), der også omfatter mikrobiologi: MIKAP (Mikrobiologisk Kvalitetssikring i Almen Praksis). Den mikrobiologiske LKO er forankret i Klinisk Mikrobiologisk afdeling (KMA), Aalborg Sygehus. Ordningen indebærer udsendelse af simulerede urinprøver samt kurser. Der samarbejdes med de øvrige kliniske mikrobiologiske afdelinger i Region Midt og Region Syd. Ordningen følger retningslinierne angivet i "Kvalitetssikring og Kvalitetskrav til laboratoriemedicinske aktiviteter i almen praksis og Kvalitetskrav og kvalitetsvurderingssystem for hyppigt udførte klinisk biokemiske og kliniske mikrobiologiske analyser i almen praksis, anden udgave 2011." Indholdet vedrørende urinanalyse fremgår af det følgende.

Kvalitetssikring af mikrobiologiske analyser
Kvalitetssikring af mikrobiologiske analyser i primærsektoren tager alene udgangspunkt i de laboratorietekniske krav til analyserne. Der foretages med andre ord ikke en vurdering af en analyses kliniske anvendelse eller krav hertil. Udgangspunktet for beregningen af kvalitetskravene til de mikrobiologiske analyser bygger på to præmisser:

1) Der udsendes 3 materialer 2 gange pr. år.
2) Beregningen af kvaliteten bygger på udsendelserne for 2 år, altså 12 materialer.

Kvalitetsvurderingen udarbejdes på grundlag af de sidste 2 års undersøgelser (glidende 2-års periode).

Parallelanalyser frarådes generelt som metode til kvalitetssikring af mikrobiologiske analyser. Fremsendelse af egne prøver til LKO-laboratoriet i form af dyrkningsplader, resistensplader eller dipslides kan dog i udvalgte tilfælde efter aftale anvendes til afklaring af faglige spørgsmål herunder egne laboratorieprocedurer.

Urinmikroskopi
De udsendte materialer mikroskoperes med fasekontrast mikroskopi.

Ved mikroskopi vurderes det **gennemsnitlige antal bakterier pr. synsfelt ved 400 x forstørrelse**. Fundet gradueres i følgende klasser:
- 0 bakterier pr. synsfelt
- < 1 bakterie pr. synsfelt
- 1-10 bakterier pr. synsfelt
- > 10 bakterier pr. synsfelt.

Ved opgørelsen af bakterieantal tillades ± en faktor 10 i vurderingen.

Ved fund af bakterier vurderes **morfologien**:
- stave
- kokker i hobe
- kokker i kæder
- blandet flora

Kvalitetskrav

	Bakterieantal		Morfologi	
Særdeles tilfredsstillende	≥ 91%	(≥11 korrekte af 12)	≥83%	(≥ 10 korrekte af 12)
Tilfredsstillende	= 83%	(10 korrekte af 12)	= 75%	(9 korrekte af 12)
Mindre tilfredsstillende	= 75%	(9 korrekte af 12)	= 66%	(8 korrekte af 12)
Ikke tilfredsstillende	< 75%	(< 9 korrekte af 12)	< 66%	(< 8 korrekte af 12)

Anbefalet kvalitetssikringsmetode
Ekstern materialeudsendelse, hvor det udsendende LKO-laboratorium også sender materialer til sig selv og andre LKO-laboratorier til analyse i laboratoriet. Materialerne udsendes som simulerede urinprøver med tilsætning af borsyre mhp stabilisering af bakterietallet under udsendelsen.

Intervention
Ved opnåelse af kvalitetsniveau »meget tilfredsstillende« og »tilfredsstillende« godkendes lægepraksis umiddelbart. Ved opnåelse af kvalitetsniveau »mindre tilfredsstillende« og »ikke tilfredsstillende« finder lægepraksis og den mikrobiologiske laboratoriefaglige konsulent i fællesskab årsagen snarest muligt.

Dyrkning på urin
De udsendte materialer dyrkes på vanligt dyrkningssubstrat, der benyttes i den pågældende praksis. Korrekt rapportering indebærer beskrivelse af vækstgrad og florasammensætning.

1. **Vækstgrad**
Beskrives som vækst eller ikke vækst. Ved vækst gradueres efter mængde i nedenstående koncentrationer:

2. **Mængde**
- $\leq 10^3$ kolonier
- 10^4 kolonier
- 10^5 kolonier
- $> 10^5$ kolonier.

Ved opgørelsen af mængden tillades ± en faktor 10 i vurderingen.

3. **Florasammensætning**
Ved vækst beskrives florasammensætningen som:
- renkultur
- blanding af flere forskellige organismer (blandet flora).

Kvalitetskrav

	± Vækst		Mængde	
Særdeles tilfredsstillende	100%	(12 korrekte af 12)	≥ 91%	(≥11 korrekte af 12)
Tilfredsstillende	= 91%	(11 korrekte af 12)	= 83%	(10 korrekte af 12)
Mindre tilfredsstillende	= 83%	(10 korrekte af 12)	= 75%	(9 korrekte af 12)
Ikke tilfredsstillende	< 83%	(<10 korrekte af 12)	< 75%	(<9 korrekte af 12)

	Florasammensætning	
Særdeles tilfredsstillende	≥ 91%	(≥11 korrekte af 12)
Tilfredsstillende	= 83%	(10 korrekte af 12)
Mindre tilfredsstillende	= 75%	(9 korrekte af 12)
Ikke tilfredsstillende	< 75%	(<9 korrekte af 12)

Anbefalet kvalitetssikringsmetode

Ekstern materialeudsendelse, hvor det udsendende LKO-laboratorium også sender materialer til sig selv og andre LKO-laboratorier til analyse i laboratoriet. Prøverne udsendes som simulerede urinprøver med tilsætning af borsyre mhp stabilisering af bakterietallet under udsendelsen.

Parallelanalyse er en alternativ metode, som ikke anbefales. Parallelanalyse indebærer, at tilfældige prøver af varierende sværhedsgrad indsendes. Parallelanalyser tillader derfor ikke en systematisk undersøgelse af specielle problemstillinger ved dyrkningsundersøgelse, og vanskeliggør en sammenligning af analyseresultater for deltagerne i en kvalitetssikringsordning.

Intervention

Ved opnåelse af kvalitetsniveau »meget tilfredsstillende« og »tilfredsstillende« godkendes lægepraksis umiddelbart. Ved opnåelse af kvalitetsniveau »mindre tilfredsstillende« og »ikke tilfredsstillende« finder lægepraksis og den mikrobiologiske laboratoriefaglige konsulent i fællesskab årsagen snarest muligt.

Resistensbestemmelse på urin

Resistensundersøgelsen (følsomhedsvurdering) udføres som en biologisk test med svar, afgivet på en binominal skala med udfaldet S (følsom) eller R (resistent).

Der udsendes årligt 6 relevante bakterier (typiske isolater fra patienter med urinvejsinfektion), fordelt på 2 udsendelser. Analysen sker som enkeltbestemmelse. Ved resistensbestemmelsen undersøges for mindst 4 forskellige antibiotika, dvs. pr. år 6 x 4 = 24

enkeltbestemmelser af antibiotikaresistens. Kvalitetsvurderingen forudsætter således 2 x 24 = 48 enkeltbestemmelser.

Kvalitetskrav

	Resistensbestemmelse	
Særdeles tilfredsstillende	≥ 91%	(≥ 44 korrekte resultater af 48)
Tilfredsstillende	83% - 90%	(40-43 korrekte resultater af 48)
Mindre tilfredsstillende	75% - 82%	(36-39 korrekte resultater af 48)
Ikke tilfredsstillende	< 75%	(< 36 korrekte resultater af 48)

Der tages – ved vurdering af de enkelte resistensbestemmelsers korrekthed – udelukkende udgangspunkt i testens resultat, ikke dens kliniske konsekvens eller det forhold, at nogle antibiotika er sværere end andre at resistensbestemme bakterier overfor. Der bliver heller ikke skelnet imellem en »major error« (som opstår, når en resistent bakterie bliver betegnet som værende følsom) og en »minor error« (som opstår, når en følsom bakterie bliver betegnet som værende resistent) desuagtet, at den førstnævnte fejl vil kunne lede til en direkte fejlbehandling af patienten.

Anbefalet kvalitetssikringsmetode

Ekstern materialeudsendelse, hvor det udsendende LKO-laboratorium også sender materialer til sig selv og andre LKO-laboratorier til analyse i laboratoriet. Prøverne udsendes som simulerede urinprøver med tilsætning af borsyre mhp stabilisering af bakterietallet under udsendelsen.

Parallelanalyse er en alternativ metode, som ikke anbefales. Parallelanalyse indebærer, at tilfældige prøver af varierende sværhedsgrad indsendes. Parallelanalyser tillader derfor ikke en systematisk undersøgelse af specielle problemstillinger ved resistensbestemmelse, og vanskeliggør en sammenligning af analyseresultater for deltagerne i en kvalitetssikringsordning.

Intervention

Ved opnåelse af kvalitetsniveau »meget tilfredsstillende« og »tilfredsstillende« godkendes lægepraksis umiddelbart. Ved opnåelse af kvalitetsniveau »mindre tilfredsstillende« og »ikke tilfredsstillende« finder lægepraksis og den mikrobiologiske laboratoriefaglige konsulent i fællesskab årsagen snarest muligt.

Fluor vaginalis

Baggrund
Fluor vaginalis er en hyppig årsag til henvendelse i almen praksis. Fluor vaginalis har flere forskellige årsager. Infektion i cervix uteri (klamydia, gonokokker), infektion i vagina (gærsvampe, *Trichomonas*), ændret flora i vagina (bakteriel vaginose) og fysisk/kemiske årsager.

Oversigt over typiske fund ved gynækologisk undersøgelse af patienter med udflåd forårsaget af bakteriel vaginose, *Trichomonas vaginalis* og gærsvampe

		Normal	**Bakteriel vaginose**	***Trichomonas vaginalis***	***Candida***
Vaginal-sekret	farve	hvid	gråhvid	gulgrøn	hvid
	konsistens	inhomogen	homogen	homogen	inhomogen
	pH	3,5	> 4,5	> 4,5	4,5
	lugt	ingen	fiskeagtig	evt. rådden	ingen
	amin test	negativ	positiv	evt. positiv	negativ
Vaginalvæg		normal	normal	inflammeret	inflammeret
Mikroskopi	leukocytter	ingen/få	ingen/få	mange	få
	pladeepith.	mange	mange	få	mange
	bakterier	store stave	cocco-baciller	blandet	store stave
	gær	ingen	ingen	ingen	gær, hyfer
	Trichomonas vaginalis	ingen	ingen	til stede	ingen
	clue cells	ingen	ofte	ingen	ingen
Dyrkning		nej	nej	evt.	evt.

Diagnostik

I forbindelse med gynækologisk undersøgelse tages nedenstående prøver:

- fra cervix til undersøgelse for klamydia (specielt klamydiasæt) og dyrkning for gonokokker (kulpodepind i Stuarts transport medium)

- fra vagina (fornix posterior) sekret til undersøgelse for bakteriel vaginose, gærsvampe og *Trichomonas vaginalis*.

I lægepraksis kan man vælge selv at udføre mikroskopi for bakteriel vaginose, mikroskopi for gær samt for *Trichomonas vaginalis*. Prøvetagning, præparering og mikroskopi er ens, se nedenfor. Der redegøres for diagnostik af bakteriel vaginose, som er den hyppigste årsag til fluor vaginalis.

Lægepraksis, som ikke selv udfører mikroskopi, kan tage sekret fra vagina (fornix posterior) en prøve til mikroskopi for bakteriel vaginose (hvid vatpind i tørt prøverør med blåt låg, tilsæt en dråbe saltvand, så vatpinden holdes fugtig), samt en podning til dyrkning for gær (kulpodepind i Stuarts transport medium) og en podning til dyrkning for *Trichomonas vaginalis* (kulpodepind i Stuarts transport medium).

Bakteriel vaginose

Bakteriel vaginose er den hyppigste årsag til udflåd hos kvinder. Tilstanden skyldes en ændring af den normale vaginalflora, således at det totale antal bakterier i vagina er øget og laktobacillerne erstattet af store mængder af små pleomorfe stave, bl.a. *Gardnerella vaginalis, Mobiluncus* og anaerobe. Bakterierne har en ejendommelig evne til at adhærere til vaginas pladeepitelceller, således at disse er helt dækket af bakterier (clue cells). Samtidig er pH ændret fra ca. 3,5 til > 4,5. Tilstanden forekommer kun under østrogenpåvirkning, dvs. i den fertile alder.

Mange kvinder uden udflådsklager huser *Gardnerella* i vagina, hvorfor dyrkning for denne bakterie de fleste steder er forladt. Diagnosen stilles i stedet ved mikroskopi af vaginalsekret. Princippet i mikroskopi er en vurdering af antallet af laktobaciller, Gardnerellalignende bakterier og clue cells. Antallet af hver slags bakterier omregnes til en score, og den samlede score er udtryk for, om der foreligger bakteriel vaginose. Mikroskopien kan enten udføres hos den praktiserende læge og/eller på Klinisk

mikrobiologisk afdeling, Aalborg sygehus, som registrerer antal bakterier pr. synsfelt og omregner til en score efter nedenstående omregningsskema til tolkning af mikroskopi af vaginalsekret. Af hensyn til de læger, som selv mikroskoperer, besvares prøven med både score for hver slags bakterie og med samlet score, så lægen kan sammenligne sine resultater med laboratoriets.

Prøvetagning
Fra fornix posterior opsamles sekret med hvid vat- eller dakronpind. Såfremt man ønsker at sende prøven til mikroskopi på KMA, tilsættes en lille dråbe saltvand til podepinden, så denne ikke tørrer ud, hvorefter pinden anbringes i prøverør med blåt låg (varenummer 264598). Holdbar i køleskab mindst 3 døgn.

Fremstilling af præparat
Sekretet på vatpinden afsættes på et objektglas. Herefter afsættes en lille dråbe saltvand ved siden af. Et dækglas lægges på dråben, som med en let roterende bevægelse blandes med sekretet. Mikroskoperes straks.

Mikroskopi af vaginalsekret
Der anvendes fasekontrast mikroskopi med objektiv x 40 (400 x forstørrelse). Der ses efter laktobacil morfologi, *Gardnerella* morfologi og clue cells , når det drejer sig om bakteriel vaginose. Der ses også efter gærsvampe og *Trichomonas vaginalis (Fig. 52)* for eventuelt at kunne stille disse diagnoser.

Laktobacil morfologi
Lange, lige, ubevægelige stave af ensartet tykkelse med nærmest afskårne ender. Længden kan være ret varierende. Tendens til lejring i kæder eller som palisader. Det gennemsnitlige antal pr. synsfelt i tre repræsentative synsfelter angives som 0, 1-5, 6-15, 16-30 eller >30. *(Fig. 53)*.

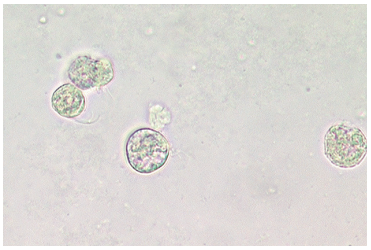


Fig. 52: Trichomonas vaginalis

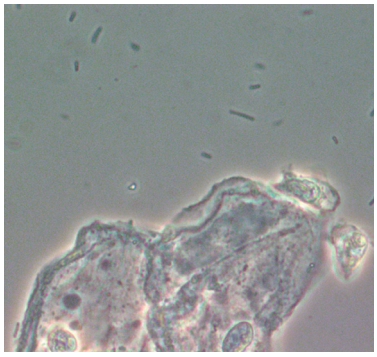


Fig. 53: Normalt vaginalsekret med 2 pladeepithelceller og spredte store stave (laktobacil morfologi)

Gardnerella morfologi

Meget små, ubevægelige, pleomorfe kokkobaciller med en tendens til at klumpe sammen i mindre flager eller stimer.
Det gennemsnitlige antal pr. synsfelt i tre repræsentative synsfelter angives som 0, 1-5, 6-15, 16-30 eller >30. (*Fig 54)*.

Clue cells

Vaginale pladeepitelceller, der er så massivt dækket af kokkobaciller, at dele af deres cellekanter er udslettet. *(Fig 54)*.

Det gennemsnitlige antal per synsfelt i tre repræsentative synsfelter angives som 0, 1-4 eller >4.

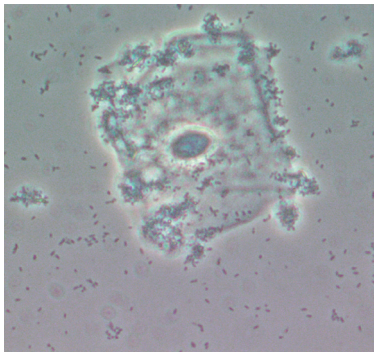


Fig. 54: Bakteriel vaginose med en clue cell (pladeepithelcelle dækket med små pleomorfe stave) og myriader af små pleomorfe stave (*Gardnerella* morfologi)

Omregningsskema til tolkning af mikroskopi af vaginalsekret

	Antal/synsfelt	Score
Laktobaciller	0	4
	1-5	3
	6-15	2
	16-30	1
	>30	0
Gardnerella	0	0
	1-5	1
	6-15	2
	16-30	3
	>30	4
Clue cells	0	0
	1-4	1
	>4	2
Score i alt		

Tolkning

Score ≥8: Bakteriel vaginose

Score 5-7: Intermediær tilstand, prøven gentages senere ved fortsatte symptomer

Score ≤4: Normal vaginalflora

Findes der mange gærsvampe i præparatet, kan det være vanskeligt at vurdere, om der tillige er bakteriel vaginose *(Fig. 55)*. Der tilrådes ny prøve efter behandling af svampeinfektionen. Findes mange leukocytter bør man tænke på bakteriel infektion fx klamydia eller gonokokker.

Man bør mikroskopere hyppigt, så man opnår rutine. Da behøver man ikke at tælle bakterier, hvis man ser det klassiske billede af bakteriel vaginose eller helt normal vaginalflora.

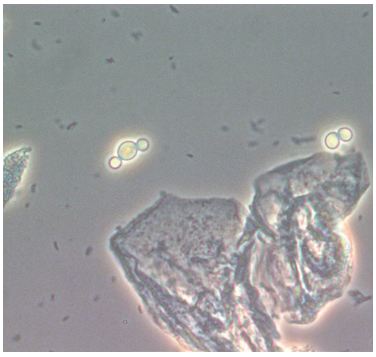


Fig. 55: Vaginalsekret med pladeepithelceller og gærsvampe