



Intended use

A dip slide culture method for diagnosing urinary tract infections. Uricult Vet is intended for veterinary use only.

Contents

Uricult Vet	Cat. No. 06064
Uricult Vet dip slides	10
Patient labels	10
Instructions for use	1

Principle

The Uricult Vet dip slide system is based on two culture media. One side of the plastic slide is covered with green CLED medium and the other with reddish-brown MacConkey medium for detection of microbes causing urinary tract infections. The CLED medium is intended for determining the total microbial count. The MacConkey medium is intended for detecting gram-negative* microbes. This medium contains bile salts that prevent the growth of gram-positive* microbes other than enterococci, which may grow as pinpoint colonies.

Typical formulation

CLED medium		MacConkey medium	
Peptone	10.0 g/l	Peptone	20.0 g/l
Meat extract	3.0 g/l	Lactose	10.0 g/l
Lactose	10.0 g/l	Neutral red	0.075 g/l
L-Cystine	0.13 g/l	Bile salts	0.8 g/l
Bromthymol blue	0.03 g/l		

Warnings and precautions

- Uricult Vet is for *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use the product beyond the expiry date marked on the box.
- Do not use the product if you detect discoloration or dehydration of the culture media, separation of the culture media from the plastic slide or evidence of microbial growth on the culture media.
- Because any colonies growing on the Uricult Vet culture media are actual or potential pathogens, do not touch the growth.
- To avoid contamination**, also do not touch the surfaces of uninoculated Uricult Vet culture media.
- Ensure that the surfaces of the culture media do not come into contact with animal hair or other objects in conjunction with sampling.

Storage

Uricult Vet is stored at room temperature (18...25°C / 64...77°F), 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.

Sampling

Ideally, urine for bacterial culture should remain in the bladder for four hours prior to sampling. The veterinarian will provide detailed instructions for "home sampling".

The veterinarian may also take a sample by catheterisation or bladder aspiration, as required.

The urine sample may also be taken by holding a Uricult Vet slide directly in the animal's urine stream. In this method, it is important ensure that the surfaces of both culture media become completely wet and that no contamination occurs from animal hair or other objects in conjunction with sampling.

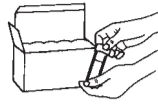
The sample should be inoculated onto the Uricult Vet slide immediately after collection. The slide should then at once be returned into its protective tube and the cap closed tightly.

If the urine sample needs to be stored prior to inoculation onto Uricult Vet, it should be kept refrigerated at 2...8°C / 36...46°F no longer than 24 hours.

Anti-inflammatory medications may affect the result of the Uricult Vet test. Therefore, the test should not be performed until 48 hours after the final dose of medication.

Test procedure

1



Unscrew the slide from the tube without touching the surfaces of the culture media.

2



Holding Uricult Vet by the cap, dip the slide into the urine sample so that the surfaces of the culture media become completely wet. If the volume of urine is too small for this, the culture media can be inoculated by pouring urine on them while tilting the slide from side to side to ensure complete wetting.

Uricult Vet may also be inoculated directly in the animal's urine stream. Do this by removing a Uricult Vet slide from its protective tube and holding it by the cap in the urine stream. Tilt the slide from side to side to ensure that the surfaces of both culture media become wet while taking care that animal hair or other objects no do touch the surfaces of the culture media.

3



Allow excess urine to drain from the slide onto a piece of paper tissue. Do not let the paper tissue touch the surfaces of the culture media.

Blot the remaining urine by tapping the tip of the Uricult Vet slide gently on the paper tissue.

4



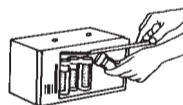
Return the slide into the tube and close the tube tightly.

5



Fill in the patient label and attach it to the tube.

6



To incubate*** Uricult Vet, place the tube upright in an incubator (36°C ± 2°C / 97°F ± 4°F) for 16–24 hours. Uricult Vet can also be incubated at room temperature for 24–72 hours. Uricult Vet may also be sent to a laboratory for incubation and interpretation.

7



To obtain a colony count (CFU/ml), remove the slide from the tube and compare the colonies, or colony density, on the CLED medium with the model chart included in these instructions for use.

Note 1:

Uricult Vet cultures that appear negative after incubation, may be incubated for additional 24 hours at 36°C ± 2°C / 97°F ± 4°F to detect any slow-growing bacteria and yeasts.

Note 2:

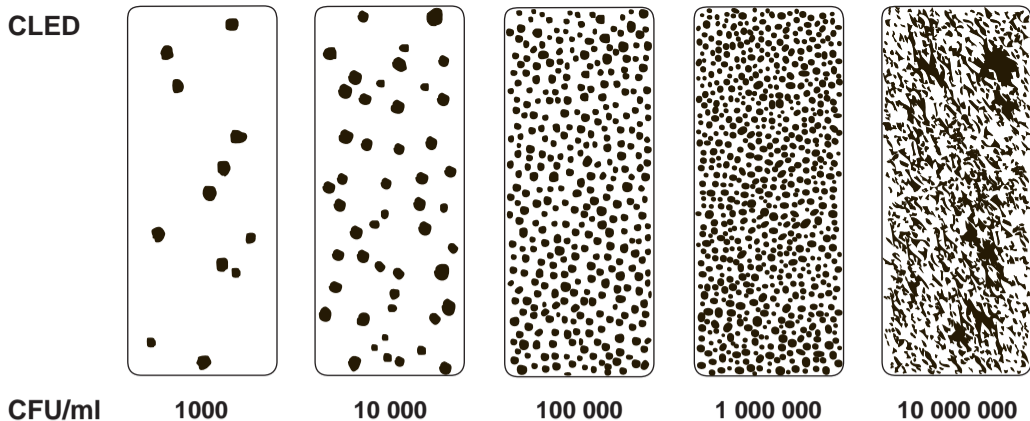
- A slide that has been dipped in the sample may be
- incubated immediately
 - stored unincubated for incubation at a later stage or
 - transported to a laboratory for incubation or interpretation.

Storage or transportation should not exceed 48 hours at 7...25°C / 45...77°F, after which Uricult Vet should be incubated at 36°C ± 2°C / 97°F ± 4°F. If Uricult Vet has been stored or transported for 48 hours, only the presence of growth and the colony count may be recorded from it; the colour reaction of the culture media may be atypical.

Note 3:

The inoculated slide may be incubated at room temperature (18...25°C / 64...77°F) for 24–72 hours, after which positive cultures may be interpreted.

Model Density Chart



The colony count is 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.** A growth consisting of several species of bacteria is termed mixed flora and is most likely due to contamination of the urine sample.

Interpretation of results

After incubation of the dip slide inoculated with the sample, the presence of bacteria is evidenced by colonies on the culture medium. As a colony is the result of the multiplication of a single bacterial cell, the number of colonies indicates the number of colony-forming units (CFUs) in the urine sample.

The colony count is 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* species. Bromthymol blue and lactose in the medium facilitate the detection of lactose-fermenting bacteria. Such lactose-positive**** strains grow as yellow colonies and turn the culture medium yellow, whereas lactose-negative**** colonies are translucent with no colour change of the medium.

The reddish MacConkey medium supports the growth of gram-negative bacteria, but even certain enterococci may grow as pinpoint colonies on the medium. The selectivity is accomplished with bile salts. Lactose-positive bacteria grow as red colonies and lactose-negative bacteria as translucent colonies on the medium.

When the colony density is high ($\geq 10^7$ CFU/ml), the surface of the culture medium may become totally covered by confluent growth. This can be misinterpreted as a negative result. Therefore, any culture media surfaces that appear negative should be examined under a reflecting light; absence of reflection suggests confluent growth. A bright light also facilitates the detection of pinpoint colonies. A growth consisting of several species of bacteria is termed mixed flora and is most likely due to contamination of the urine sample.

Expected values

Method of sampling	Significant colony count CFU/ml	
	Dog	Cat
Bladder aspiration	$\geq 10^3$	$\geq 10^3$
Catheterisation	$\geq 10^4$	$\geq 10^3$
Voided urine	$\geq 10^5$	$\geq 10^4$

Limitations of procedure

Uricult Vet is capable of detecting urinary 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 method is used according to instructions, the colony counts show a 99% correlation with the conventional pour plate method.

Performance characteristics

CLED medium

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

Quality assurance

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

- Prepare a 10^5 – 10^6 bacteria/ml suspension of each of the following bacterial species in sterile saline:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Use the suspensions to inoculate Uricult Vet dip slides, using the normal procedure.
- Interpret the results after a 16–24 hour incubation as follows:

St. aureus ATCC 25923:

Growth of colonies on the CLED medium only. Colonies ferment lactose, as indicated by the yellow colour of the colonies 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 colonies on the MacConkey medium.

Proteus mirabilis ATCC 12453:

Growth of translucent colonies with a shift towards blue of the CLED medium and growth of colourless colonies on the MacConkey medium.

Disposal

Used Uricult Vet dip slides should be disposed of by burning, autoclaving or immersing in a disinfectant overnight, with adherence to local regulations.

Glossary

- * **gram-positive and gram-negative:**
Gram staining is the most important method of grouping bacteria, allowing bacteria to be classified either as gram-positive (staining blue) or gram-negative (staining red). The differential staining is due to differences in the structure of the bacterial cell wall.
- ** **Contamination** denotes the entry of microbes in places where they are not desired.
- *** **Incubation** denotes growing of Uricult Vet cultures at room temperature or in an incubator.
- **** **Lactose-positive** denotes a bacterium capable of utilising/fermenting the lactose contained in the culture medium.
Lactose-negative denotes a bacterium incapable of utilising/fermenting the lactose contained in the culture medium.

Contact information

Manufactured by:



Orion Diagnostica Oy
P.O.Box 83, FI-02101 Espoo, Finland
Tel. +358 10 4261
Fax +358 10 426 2794
www.oriondiagnostica.com

Uricult® is a registered trademark of Orion Diagnostica Oy.



Käyttö

Viljelyyn perustuva kastolevymenetelmä virtsatieinfektion toteamiseen. Uricult Vet on tarkoitettu vain eläinkäyttöön.

Sisältö

Uricult Vet	Cat. No. 06064
Uricult Vet -kastolevyt	10
Näytetarrat	10
Käyttöohje	1

Periaate

Uricult Vet -kastolevyssä on kaksi elatusainetta. Muovilevyn toinen puoli on päällystetty vihertävällä CLED-elatusaineella ja toinen puoli punertavalla MacConkey-elatusaineella virtsatieinfektioita aiheuttavien mikrobin toteamiseksi. Cled-elatusaineella todetaan mikrobin kokonaismäärä. MacConkey-elatusaine on tarkoitettu gram-negatiivisten mikrobin toteamiseen. Elatusaineeseen lisätty sappisuola estää gram-positiivisten* mikrobin kasvua, lukuunottamatta enterokokkeja, jotka saattavat kasvaa pieninä pesäkkeinä.

Koostumus

CLED elatusaine		MacConkey elatusaine	
Peptoni	10.0 g/l	Peptoni	20.0 g/l
Lihauute	3.0 g/l	Laktoosi	10.0 g/l
Laktoosi	10.0 g/l	Neutraalipuna	0.075 g/l
L-Kystiini	0.13 g/l	Sappisuolat	0.8 g/l
Bromtymolisini	0.03 g/l		

Turvamääräykset ja varotoimenpiteet

- Uricult Vet on tarkoitettu ainoastaan **in vitro**-diagnostiseen käyttöön.
- Tuotetta ei tule käyttää rasiaan merkityn viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Tuotetta ei tule käyttää, jos elatusaineessa ilmenee värimuutoksia tai kuivumista tai jos elatusaine on irronnut muovilevystä tai sillä esiintyy mikrobikasvua.
- Koska Uricult Vet -kastolevyn elatusaineille kasvavat pesäkkeet ovat todellisia tai mahdollisia patogeeneja, kasvustoa ei tule koskettaa.
- Myöskään viljelemättömän Uricult Vet -kastolevyn elatusainepintoja ei tule koskettaa kontaminaation estämiseksi.
- Näytteenoton yhteydessä on varottava, etteivät elatusainepinnat kosketa eläimen karvoja tai muuta ympäristöä.

Säilytys

Uricult Vet -kastolevyt säilytetään huoneenlämmössä (18...25°C) suojattuna ilmavirroilta ja lämmönvaihteluilta. Tuotetta ei tule säilyttää vetoisessa paikassa eikä lämpöä tuottavien laitteiden läheisyydessä. URICULT VET EI SAA JÄÄTYÄ. Säilyvyysaika on merkitty rasiaan.

Näytteenotto

Viljelyä varten virtsanäytteen tulisi olla ollut rakossa 4 tuntia ennen näytteenottoa. Eläinlääkäri antaa tarkemmat näytteenotto-ohjeet "kotinäytteenottoon".

Tarvittaessa eläinlääkäri voi ottaa myös katetri- tai rakkokontaminationäytteen.

Virtsanäytteen voi ottaa myös suoraan eläimen virtsasuihkusta Uricult Vet -kastolevylle. Tällöin tulee huolehtia, että näyte kostuttaa molemmat elatusainepinnat hyvin ja näytteenoton yhteydessä ei tule kontaminaatioita eläimen karvoista tai muusta ympäristöstä.

Näyte tulisi viljellä Uricult Vet -kastolevylle välittömästi näytteenoton jälkeen. Viljelyn jälkeen levy viedään välittömästi takaisin putkeen, joka suljetaan huolellisesti.

Jos virtsanäytteitä joudutaan säilyttämään ennen viljelyä Uricult Vet -kastolevylle, ne tulee säilyttää jäädytettynä 2...8°C:n lämpötilassa korkeintaan 24 tuntia.

Tulehduslääkitys voi vaikuttaa Uricult Vet -tulokseen eikä testiä tulisi suorittaa ennenkuin 48 tuntia on kulunut viimeisestä lääkemannoksesta.

Testin suoritus

1



Levy poistetaan putkesta koskematta elatusainepintoja.

2



Uricult Vet kastetaan virtsanäytteeseen tulpasta kiinni pitäen niin, että molemmat elatusainepinnat kostuvat kauttaaltaan. Jos virtsamäärä ei ole riittävä, viljely voidaan tehdä kaatamalla virtsanäyte elatusaineelle samalla käännellen levyä niin, että koko elatusaineen pinta kostuu.

Uricult Vet -kastolevyn voi viljellä myös suoraan eläimen virtsasuihkusta. Vie tällöin suojaputkesta poistettu Uricult Vet -levy tulpasta kiinni pitäen virtsasuihkuun ja kääntelevyä niin, että molemmat elatusainepinnat kastuvat samalla varoen, etteivät eläimen karvat tai ympäristö kosketa elatusainepintoja.

3



Virtsan ylimäärän annetaan valua levyllä imupaperiin. Elatusaineen pintaa ei saa koskea imupaperilla.

Loppu virtsa imeytetään imukykyiseen paperiin kopauttamalla Uricult Vet -kastolevyn kärki kevyesti imupaperiin.

4



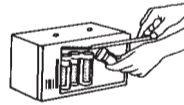
Levy viedään takaisin putkeen ja putki suljetaan huolellisesti.

5



Näytetarra täytetään ja kiinnitetään putkeen.

6



Uricult Vet -kastolevyä inkuboidaan*** lämpökaapissa (36±2°C) pystysuorassa asennossa 16–24 tunnin ajan. Uricult Vet voidaan inkuboida myös huoneenlämmössä. Tällöin kasvatusaika on 1–3 vrk.

Uricult Vet -kastolevyn voi lähettää myös laboratorioon inkubointia ja tulkintaa varten.

7



Tulostusta varten levy poistetaan putkesta ja CLED- elatusaineella kasvavia pesäkkeitä eli pesäketiheytettä verrataan käyttöohjeen mallitauluun, jolloin tuloksena saadaan pesäkeluku CFU/ml.

Huom. 1:

Inkubaation jälkeen negatiiviset Uricult Vet -kastolevyt voidaan edelleen inkuboida 24 tuntia 36±2°C:ssa hitaasti kasvavien bakteerien ja mahdollisten hiivojen toteamiseksi.

Huom. 2:

Näytteeseen kastettu levy voidaan

- inkuboida välittömästi,
- säilyttää inkuboimattomana myöhempää inkubaatiota varten tai
- kuljettaa laboratorioon inkuboitavaksi tai tulostettavaksi.

Säilytyksen/kuljetuksen jälkeen Uricult Vet inkuboidaan 36±2°C lämpötilassa. Inkubointia edeltävän säilytyksen/kuljetuksen ei tule ylittää 48 tuntia 7...25°C:ssa.

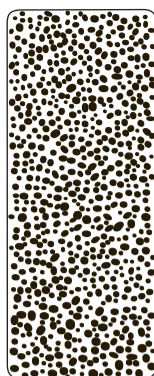
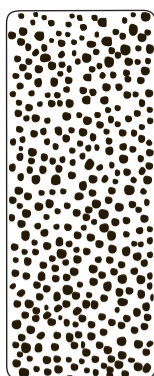
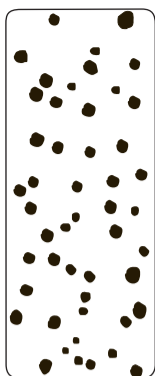
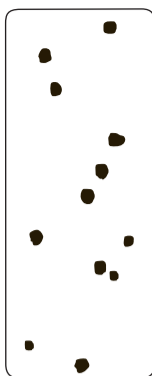
Jos Uricult Vet -kastolevyä on säilytetty tai kuljetettu 48 tuntia siitä voidaan tehdä vain kasvu- tai pesäkelukutustulos, elatusaineiden värireaktio voi olla epätyypillinen.

Huom. 3:

Viljely levy voidaan inkuboida huoneenlämmössä (18...25°C) 1–3 päivää, jonka jälkeen positiiviset kasvustot tulkitaan.

Mallitaulu

CLED



CFU/ml

1000

10 000

100 000

1 000 000

10 000 000

Alun perin vihreää CLED-elatusainetta käytetään pesäkeluvun määrittämiseen, vertaamalla pesäkkeiden tiheyttä mallitaulun lähinnä vastaavaan tiheyteen.

Tärkeää on verrata pesäkkeiden lukumäärää, ei pesäkkeen kokoa mallitauluun.

Usean bakteerilajin muodostama kasvusto on sekakasvustoa ja se on yleensä seurausta virtsanäytteen kontaminaatiosta.

Tulosten tulkinta

Inkubaation jälkeen bakteerit todetaan näytteeseen kastetuilta Uricult Vet -kastolevyiltä pesäkekasvuna elatusaineella. Pesäkkeen muodostuminen on seurausta yksittäisen bakteerisolun jakautumisesta. Pesäkkeiden lukumäärä ilmaisee virtsanäytteessä olevien pesäkkeitä muodostavien yksiköiden (CFU = colony forming unit/pesäkkeitä muodostava yksikkö) lukumäärän.

Pesäkeluvun määrittäminen tapahtuu alun perin vihreältä CLED-elatusaineelta, vertaamalla pesäkkeiden tiheyttä mallitaulun lähinnä vastaavaan tiheyteen. Tärkeää on verrata pesäkkeiden lukumäärää, ei pesäkkeen kokoa mallitauluun. Elatusaineen alhainen elektrolyyttipitoisuus estää *Proteus*-lajien leviämistä. CLED-elatusaineen bromitymolisini ja laktoosi auttavat laktoosia käyttävien bakteeritunnistusta. Laktoosi-positiiviset**** kannat kasvavat keltaisina pesäkkeinä ja muuttavat elatusaineen värin keltaiseksi, kun taas laktoosi-negatiiviset**** pesäkkeet kasvavat värittöminä elatusaineen värin pysyessä muuttumattomana.

Punertavalla MacConkey-elatusaineella kasvavat gram-negatiiviset bakteerit, myös tietyt enterokokit saattavat kasvaa pieninä pesäkkeinä. Elatusaineen selektiivisyys on saatu aikaan sappisuoloilla. Laktoosi-positiiviset bakteerit kasvavat elatusaineella punaisina ja laktoosi-negatiiviset bakteerit värittöminä pesäkkeinä.

Kun pesäketiheys on suuri (> 10⁷ CFU/ml), elatusaineen pinta voi olla peittynyt koko pinnan kattavalla kasvustolla. Tämä voidaan tulkita virheellisesti negatiiviseksi tulokseksi. Tämän vuoksi negatiiviselta vaikuttava elatusainepinta pitäisi varmistaa heijastavan valon alla; heijastuksen puute viittaa koko pinnan kattavaan kasvuun. Kirkkaan valon avulla myös pienten pesäkkeiden havaitseminen on helppoa.

Usean bakteerilajin muodostama kasvusto on sekakasvustoa ja se on yleensä seurausta virtsanäytteen kontaminaatiosta.

Odotusarvot

Näytteenotto- menetelmä, kliininen status	Merkittävä pesäkeluku CFU/ml	
	Koira	Kissa
Rakkopunktio	≥ 10 ³	≥ 10 ³
Katetrointi	≥ 10 ⁴	≥ 10 ³
Laskettu virtsanäyte	≥ 10 ⁵	≥ 10 ⁴

Rajoitukset

Uricult Vet -kastolevyillä voidaan todeta virtsan bakteeripitoisuudet alueella 10³ ja 10⁷ CFU/ml. Mallitaulun avulla voidaan määrittää pesäkeluvut lähimpään 10 potenssiin. Ohjeen mukaisesti käytettynä saatu pesäkelukutulokset korreloi perinteisen maljavalumenetelmän kanssa 99 %.

Suoritusarvot

CLED elatusaine

Arneil, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature: Lancet, January 17, pp 119–1216.

Näytemäärä	140
Herkkyys	100 %
Spesifisyys	99 %
PPV	98 %
NPV	100 %
Referenssimenetelmä	Maljavalu

Laadunvarmistus

Valmistuksen yhteydessä kullekin Uricult Vet -kastolevyerälle tehdään laadunvarmistustestaukset. Jos käyttäjä kuitenkin haluaa suorittaa oman laadunvarmistuksensa, seuraava käytäntö on suositeltava:

- Seuraavista bakteerilajeista tehdään laimennokset 10⁵–10⁶ bakteeria/ml steriiliin suolaliuokseen:
 - Staphylococcus aureus* ATCC 25923
 - Escherichia coli* ATCC 25922
 - Proteus mirabilis* ATCC 12453
- Laimennokset viijellään Uricult-kastolevyille normaalia käytäntöä noudattaen.
- Tulokset tulkitaan 16–24 tunnin kasvatuksen jälkeen seuraavasti:

***St. aureus* ATCC 25923:**

Kasvu vain CLED-elatusaineella. Pesäkkeet käyttävät laktoosia, jonka osoittaa pesäkkeiden keltainen väri ja elatusaineen värin muuttuminen kellertäväksi.

***E. coli* ATCC 25922:**

Keltaisten pesäkkeiden kasvu ja elatusaineen värin muuttuminen kellertäväksi CLED-elatusaineella ja vaa-leanpunaisten pesäkkeiden kasvu MacConkey-elatusaineella.

***Proteus mirabilis* ATCC 12453:**

Värittömien pesäkkeiden kasvu CLED-elatusaineella, elatusaineen värin muuttuessa sinertäväksi ja värittömien pesäkkeiden kasvu MacConkey-elatusaineella.

Hävittäminen

Käytetyt Uricult Vet -kastolevyt hävitetään polttamalla, autoklavioimalla tai upottamalla ne desinfiioivaan liuokseen yön yli, noudattaen paikallisia ohjeita.

Käyttöohjeen sanastoa

* gram-positiivinen ja gram-negatiivinen:

Tärkein mikrobien ryhmittelymenetelmä on gramvärjäys, jonka perusteella bakteerit lajitellaan gram-positiivisiin (eli värjäytyvät sinisen violeteiksi) ja gram-negatiivisiin (värjäytyvät punaisiksi). Ero värjäytyvyydessä perustuu bakteerin erilaisiin soluseinäarakenteisiin.

** **Kontaminaatio** tarkoittaa sitä, että mikrobeja joutuu paikkaan, johon niitä ei ole tarkoitettu.

*** **Inkubaatio** tarkoittaa Uricult Vet:in kasvattamista huoneenlämmössä tai lämpökaapissa.

**** **Laktoosi-positiivinen:** Bakteerilla on kyky käyttää elatusaineen laktoosia.

Laktoosi-negatiivinen: Bakteeri ei voi käyttää elatusaineen laktoosia.

Yhteystiedot

Valmistaja:



Orion Diagnostica Oy
PL 83, FI-02101 Espoo
Puh. 010 4261
Fax 010 426 2794
www.oriondiagnostica.fi

Uricult® on Diagnostica Oy:n rekisteröimä tavaramerkki.