

FLEXICULT® VET

Test de orina

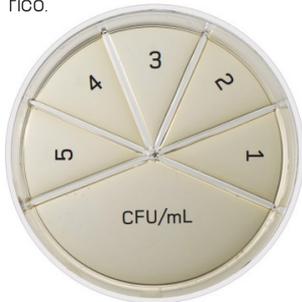


Flexicult® vet es un medio de cultivo de 24 horas diseñado para diagnosticar infecciones del tracto urinario (ITU) en perros y gatos mediante:

- Identificación y enumeración cuantitativa de bacterias en la orina
- Predicción de la susceptibilidad de la bacteria frente a 5 antibióticos

La prueba de referencia para el diagnóstico de ITU es el medio de cultivo de orina. Además de esto, se recomienda que el tratamiento con antibióticos esté basado en la susceptibilidad de las bacterias.

El Flexicult® Vet se presenta en una placa de agar con un gran compartimento para la determinación cuantitativa (UFC/mL) y 5 compartimentos pequeños que contienen cada uno un antibiótico específico.



Flexicult® vet contiene los siguientes antibióticos:

1 = Ampicilina (predictor de amoxicilina)

2 = Amoxicilina / clavulanato

3 = Cefalotin (predictor de todas las cefalosporinas de 1. generación excepto Cefazolin)

4 = Enrofloxacin

5 = Trimetoprim / sulfametoxazol (predictor de sulfonamidas potenciadas con trimethoprim)

El Flexicult® Vet es un test sencillo y fácil de utilizar lo que hace que sea especialmente adecuado para su uso en clínica veterinaria, así como en laboratorio. Solo para uso de diagnóstico veterinario *in vitro*.

ANTECEDENTES

Criterios para la infección del tracto urinario

La incidencia de infecciones del tracto urinario es mayor en perros que en gatos y se refleja de manera diferente en la literatura. El diagnóstico de ITU se realiza mediante la detección de bacterias en la orina (bacteriuria).

Si un perro o un gato presenta uno o más de los síntomas mencionados a continuación y los uropatógenos se detectan en una concentración de $> 10^3$ UFC / mL en una muestra de orina recolectada por cistocentesis, hay indicios de una infección del tracto urinario.

Las IU bacterianas no complicadas son aquellas en las que no se identifican anomalías estructurales, neurológicas o funcionales subyacentes.

Síntomas de ITU en perros / gatos

*Micción frecuente

*Dolor al orinar

*Orina maloliente

*Orina turbia

*Hematuria

PRINCIPIO

Flexicult® Vet se presenta en una placa de agar dividida en compartimentos y con una tapa. Hay un compartimento grande para el análisis cuantitativo y 5 compartimentos pequeños que contienen cada uno un antibiótico específico. Los compartimentos están marcados con los números del 1 al 5 en la parte inferior de la placa. Como el agar contiene una cantidad fija de los diferentes antibióticos, la placa debe leerse con crecimiento / sin crecimiento.

La placa de agar se cubre suavemente con la muestra de orina del perro o gato. Esto hace que la muestra de orina entre en contacto con el agar y cualquier bacteria en la muestra de orina se adhiera a la superficie del agar. Se vierte la orina y la placa Flexicult® Vet se incuba con la parte inferior hacia arriba. Después de la incubación durante la noche a 35 ° C, las bacterias individuales habrán crecido hasta convertirse en colonias visibles en el compartimento grande. Las bacterias no aparecerán en los compartimentos de antibióticos en los que son susceptibles al antibiótico relevante.

Toma de muestra

La muestra de orina preferiblemente se debe recoger lo más estéril posible mediante cistocentesis. Con esta técnica, se evitan la microflora normal de las vías urinarias de los animales. Si no es posible la cistocentesis, se puede utilizar la cateterización o la recolección de orina de la mitad de la micción.

Se deberá realizar la prueba dentro de los 30 min siguientes a la recolección de la muestra de orina.

Las muestras de orina con ácido bórico añadido no se pueden utilizar en Flexicult® ya que el ácido afectará el crecimiento de ciertas bacterias y, por lo tanto al resultado del antibiótico.

Procedimientos para grandes volúmenes de muestra (>1 mL)

1. La muestra de orina se vierte suavemente (3 a 5 sec) sobre el agar. Si la muestra de orina no cubre la superficie total de agar en todos los compartimentos, la placa se inclina de modo que la orina del compartimento grande de conteo cubra los pequeños compartimentos que contienen antibióticos.
2. Retirar el exceso de orina de modo que la orina que ha estado en contacto con los pequeños compartimentos de antibióticos no entre en contacto con el compartimento de conteo.
3. Poner la tapa e incubar Flexicult® Vet con la parte inferior hacia arriba a 35 ° C durante 18-24 horas.
4. La placa se lee al día siguiente.



Procedimientos para pequeños volúmenes de muestra (<1 mL)

1. Tiene que haber al menos 0.8 mL de orina.
2. Aplique 0.1 mL (2-3 gotas) * de orina en cada uno de los 5 compartimientos pequeños.
3. Aplique 0.3 mL (6-8 gotas) * de orina en el compartimiento grande.
4. Incline la placa suavemente durante 3-5 segundos. para asegurar que la superficie del agar se cubra con orina en cada compartimento.
5. Retirar el exceso de orina de modo que la orina que ha estado en contacto con los pequeños compartimentos de antibióticos no entre en contacto con el compartimento de conteo.
6. Poner la tapa e incubar Flexicult® Vet con la parte inferior hacia arriba a 35 °C durante 18-24 horas.
7. La placa se lee al día siguiente.

*una gota es definida como 0,005mL. Utilice por ejemplo una pipeta estéril para aplicar las gotas.

DIAGNÓSTICO

La placa de agar

La placa de agar contiene un sustrato cromogénico, que hace que las colonias bacterianas o el agar aparezcan con diferentes colores dependiendo de la especie de bacteria (ver tabla 2).

Más del 98% de todas las *E. coli* se vuelven de color rojo / marrón rojizo, mientras que *Klebsiella sp.* Se convierte en azul oscuro. La mayoría de las bacterias uropatógenas se tiñen de diferentes colores, lo que permite determinar la especie (por ejemplo, *E. coli*; *Ps. Aeruginosa*) o la familia (por ejemplo, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Enterococcus sp.*)



Ejemplo de Flexicult vet incubado
E. Coli (izquierda) y *E. faecalis* (derecha)

Bacteria

Las infecciones causadas por *E. coli* son las más comunes, y representan aproximadamente la mitad de todos los organismos aislados de la orina de perros y gatos. Las infecciones restantes se diagnostican como cocos Gram-positivos (estafilococos, enterococos y estreptococos) o bacilos Gram-negativos (*Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.* Etc.) con variación en la frecuencia. Las infecciones con más de un patógeno al mismo tiempo se ven en el 20% de las muestras de orina aproximadamente.

Flora Resistente

Aunque la orina en la vejiga es normalmente estéril, la orina que pasa a través del tracto urogenital distal se contamina con flora residente. Por lo tanto, la interpretación de las bacterias en la orina recogida por cateterismo o micción es difícil de interpretar.

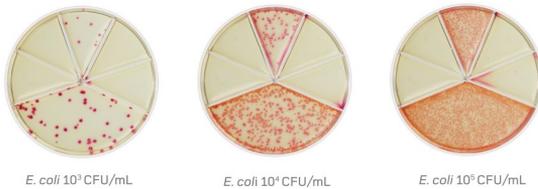
Si hay dudas sobre si hay crecimiento de un uropatógeno o flora normal, se debe examinar una nueva muestra de orina. O bien, se pueden enviar nueva muestra de orina o la placa cultivada Flexicult® Vet para su análisis en un laboratorio microbiológico.

Lectura de Flexicult

Después de la incubación toda la noche (18–24h) la placa se examina para el crecimiento bacteriano.

Compartimento de recuento

Cuanto más bacterias haya en la muestra de orina, más bacterias crecerán en el compartimento de recuento. Si se compara la densidad de las colonias en el compartimento con los ejemplos de continuación con *E. coli*, da una indicación del número de bacterias en la muestra de orina (UFC / ml de orina)



La *E. coli* que se muestra es sensible a ampicilina, amoxicilina / clavulanato, enrofloxacina y trimetoprim / sulfametoxazol ya que no hay crecimiento en estos compartimentos de antibióticos. *E. coli* es resistente al último antibiótico, cefalotina.

Tabla 1. Límites para bacteriuria significativa (UFC / mL) (modificado de Bartges et al., 2004) [1]

Método de recolección	Perro	Gato
Cistocentesis (a)	$\geq 10^3$ UFC/mL	$\geq 10^3$ UFC/mL
Cateterización	$\geq 10^4$ UFC/mL	$\geq 10^3$ UFC/mL
Mitad micción y cateterización (b)	$\geq 10^5$ UFC/mL	$\geq 10^3$ UFC/mL

(a) Una menor cantidad de bacterias en la orina puede ser significativa y representar una infección.

(b) Incluso en estos límites altos existe el riesgo de resultados falsos positivos. Por lo tanto, no se recomienda el cultivo de micción.

De las imágenes en la página 11–20 y los límites en la Tabla 1 se concluye si hay crecimiento de un patógeno urinario y si el número de UFC / ml está causando bacteriuria significativa. Si se observa crecimiento en los compartimentos con antibióticos, la densidad (UFC / ml) se compara con la densidad en el compartimento de recuento. Para los animales con infecciones repetitivas del tracto urinario siempre se debe recoger la muestra de orina mediante cistocentesis.

Si hay crecimiento de varias especies de bacterias, se evalúa la cantidad para cada bacteria.

–Si hay una bacteria patógena en una mezcla con flora normal, la flora normal debe ser ignorada.

–Si hay un patógeno dominante, la lectura del compartimento de recuento y de los antibióticos se realiza solo para este patógeno.

Si hay más de dos uropatógenos, la muestra no se puede evaluar y se debe tomar una nueva muestra de orina

Tamaño y Colores

E. coli y *Proteus sp.* crecerán bien con colonias grandes, es decir, un diámetro de 2-4 mm. *Klebsiella sp.* y *Enterobacter sp.* crecerán con colonias aún más grandes y gruesas. Los enterococos y estreptococos crecerán con colonias pequeñas (0.5-1 mm) y estafilococos un poco más grandes (1-2 mm). La identificación de la bacteria es asistida por el color de las colonias y el color del agar según la tabla 2 a continuación.

Bacteria	Tamaño de colonia	Color de colonia	Color de Agar
<i>E. coli</i>	Grande	Rojo/Rojo marrón	-
<i>Klebsiella sp.</i>	Grande, gruesa	Azul oscuro/ violeta*	-
<i>Enterobacter sp.</i>	Grande	Azul oscuro/ violeta*	-
<i>Proteus sp.</i>	Grande	Marrón claro	Marrón
<i>Proteus vulgaris</i>	Grande (swarm)	Verde/ Marrón	Marrón
<i>Ps. aeruginosa</i>	Grande	Blanco grisáceo / verdoso	Verde
<i>E. faecalis</i>	Pequeña	Verde / verde azul	-
<i>E. faecium</i>	Pequeña	Verde /Gris	-
<i>Staph. pseudintermedius</i>	Pequeña	Blanco / Rosa	-
<i>Strep. canis</i>	Pequeña	Blanquecino	-

* En algunos casos con gran crecimiento, el color de la bacteria puede ser rojizo.

Resistencia

Si no hay crecimiento en ninguno de los compartimentos de antibióticos, se considera que la bacteria es susceptible (S) al antibiótico específico.

La Tabla 3 muestra la resistencia natural y adquirida de los uropatógenos frente a los antibióticos en Flexicult® Vet.

La resistencia natural frente a ampicilina se encuentra en *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *P. vulgaris* y *Ps. aeruginosa*. *Enterobacter sp.* y *Ps. aeruginosa* son naturalmente resistentes a amoxicilina / ácido clavulánico. Además de esto *Ps. aeruginosa* es resistente a trimetoprim / sulfamethoxazole. *Enterococci sp.* siempre debe considerarse resistente a trimetoprim / sulfamethoxazole, incluso si las bacterias son leídas como susceptibles en Flexicult® Vet.

Tabla 3. Lista del patrón de susceptibilidad esperado.

R indica resistencia natural, R indica a menudo resistente, S indica generalmente susceptible

Bacteria	Ampicilina	Amoxicilina / Clavunato	Cefalotina	Enrofloxacin	Trimetoprim / Sulfamethoxazol
<i>E. Coli</i>	S	S	S	S	S
<i>Klebsiella sp./Enterobacter sp.</i>	R/R	S/R	S	S/S	S/R
<i>Proteus sp.</i>	S	S	R/S	S	S
<i>Proteus vulgaris</i>	R	S	S	S	S
<i>Ps. aeruginosa</i>	R	R	R/S	S	R
<i>E. faecalis</i>	S	S	R	S	R
<i>E. faecium</i>	R	S	S	R	R
<i>Stap. pseudintermedius</i>	R	S	R	S	S
<i>Strep. canis</i>	S	S	R	S	S

E.Coli

E. coli son grandes bacilos Gram-negativas móviles.

Las bacterias crecen en colonias grandes de color rojo/marrón.

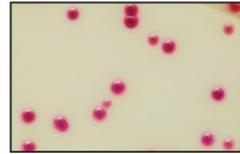
Las imágenes muestran ejemplos de E. coli en diferentes concentraciones susceptibles a la ampicilina, amoxicilina / clavulánico, enrofloxacina y trimetoprima / sulfametoxazol.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



E. Coli en detalle

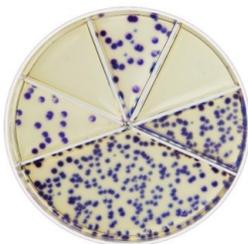
Klebsiella sp. y Enterobacter sp.

Klebsiella sp. son grandes bacilos Gram-negativos, no móviles. Enterobacter sp. son grandes bacilos Gram-negativas y móviles.

Klebsiella sp. crece en colonias grandes de color azul oscuro o púrpura

Las imágenes muestran ejemplos de una Klebsiella sp. en diferentes concentraciones susceptibles a amoxicilina / clavulanato y enrofloxacina.

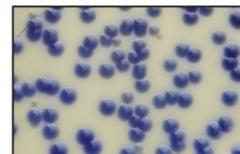
RECUERDE: Klebsiella sp. y Enterobacter sp. siempre debe leerse como resistente a la ampicilina / clavulanato.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



Klebsiella sp. en detalle

Proteus sp.

Proteus sp. son grandes bacilos móviles Gram negativos

Las bacterias crecen en grandes colonias marrón claro / marrón. El agar será marrón alrededor de la bacteria.

Proteus sp. escinde urea en amoníaco, lo que hace que la orina sea alcalina. Esto hace que por ejemplo el fosfato de calcio precipite dando como resultado la formación de cálculos en el tracto urinario.

Las imágenes muestran ejemplos de *Proteus mirabilis* en diferentes concentraciones susceptibles a la ampicilina, amoxicilina / clavulanato, enrofloxacin y trimetoprima / sulfametoxazol. *P. mirabilis* es susceptible a la ampicilina, mientras que *P. vulgaris* es resistente.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



P. mirabilis en detalle

Proteus vulgaris

Proteus vulgaris son grandes bacilos móviles Gram negativos.

Las bacterias crecen en grandes colonias de color marrón verde. El agar será marrón alrededor de la bacteria.

Proteus sp. escinde la urea en amoníaco haciendo que la orina sea alcalina y que el fosfato de calcio se precipite. El resultado pueden ser cálculos en el tracto urinario.

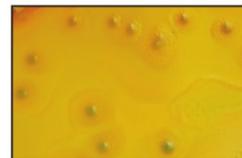
Las imágenes muestran ejemplos de *P. mirabilis* en diferentes concentraciones susceptibles a amoxicilina / clavulanato, enrofloxacin y trimetoprima / sulfametoxazol.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



P. vulgaris en detalle

Pseudomonas aeruginosa

Ps. aeruginosa son delgados bacilos móviles Gram negativos.

La bacteria crece con grandes colonias blanco grisáceas / verdosas. El agar a menudo tendrá un color verdoso y la placa tendrá un olor dulce.

Además de esto, las colonias tendrán una capa metálica.

Las imágenes muestran ejemplos de un *Ps. aeruginosa* en diferentes concentraciones susceptibles a la enrofloxacin y resistente natural al resto.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



Ps. aeruginosa en detalle

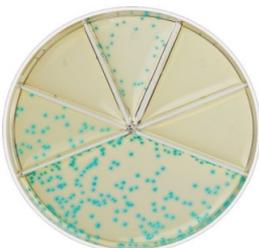
Enterococcus faecalis

E. faecalis son cocos Gram positivos y cadenas cortas y largas.

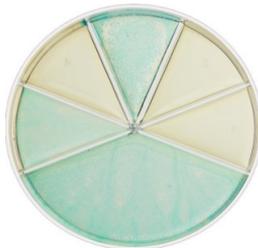
Las bacterias en colonias pequeñas de color verde /verde azuladas.

Las imágenes muestran ejemplos de *E. faecalis* en diferentes concentraciones susceptibles a ampicilina, amoxicilina / clavulánico y enrofloxacin.

RECUERDE: *E. faecalis* siempre debe interpretarse como resistente al trimetoprim / sulfametoxazol, incluso si no hay crecimiento en el compartimento n°5.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



E. faecalis en detalle

Enterococcus faecium

E. faecium son cocos Gram positivos y cadenas cortas y largas.

Las bacterias en colonias pequeñas de color verde /verde azuladas.

Las imágenes muestran ejemplos de *E. faecium* en diferentes concentraciones susceptibles a ampicilina y amoxicilina / clavulanato.

RECUERDE: *E. faecium* siempre debe interpretarse como resistente a trimethoprim / sulfamethoxazole, incluso si no hay crecimiento en el compartimento n° 5.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



E. faecium en detalle

Staphylococcus pseudintermedius

S. pseudintermedius son cocos Gram-positivos en racimo.

Las bacterias crecen en colonias pequeñas de color blanco/rosa.

Las imágenes muestran ejemplos de *S. pseudintermedius* en diferentes concentraciones susceptibles a todos los antibióticos.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



P. vulgaris en detalle

Streptococcus canis

S. canis son cocos grampositivos beta-hemolíticos del grupo G.

La bacteria crece con pequeñas colonias de color blanco.

Las imágenes muestran ejemplos de *S. canis* en diferentes concentraciones susceptibles a todos los antibióticos.



10^3 UFC/ml



10^5 UFC/ml



S. canis en detalle

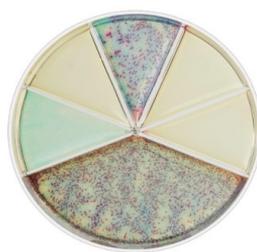
Mezcla bacteriana (ejemplo)

La lectura de la placa debe hacerse para cada patógeno.

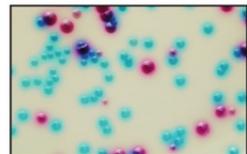
E. coli es susceptible a ampicilina, amoxicilina / clavulanato, enrofloxacin y trimetoprima / sulfametoxazol. *E. faecalis* es susceptible a ampicilina, amoxicilina / clavulánico y enrofloxacin.



Mezcla 10^3 UFC/ml de E.



Mezcla 10^5 UFC/ml de E.



Detalle de mezcla de
E. coli y *E. faecalis*

CULTURA® M

Cultura® M es una incubadora pequeña y ligera que puede transportarse fácilmente donde sea que se necesite. Duradera y fiable, diseñada para temperaturas de incubación de entre 25 °C y 45 °C.

La puerta transparente le permite controlar el interior de la incubadora sin abrir la puerta. La incubadora está equipada con un termómetro.



 eurovet
veterinaria

918 841 374

comercial@euroveterinaria.com

www.euroveterinaria.com



WWW.PRODUCTOSVETERINARIOSEUROVET.COM