

ChromArt

CHROMOGENIC URINE AGAR IV CLEAR

Terreno cromogeno in polvere e pronto per l'uso in piastra senza composto opacizzante per l'isolamento, il conteggio e l'identificazione diretta dei principali microrganismi del tratto urinario

RISPOSTA CULTURALE



Coltura mista di *E.coli* (colonie rosa-magenta), *K.pneumoniae* (colonie blu intenso), *Enterococcus* sp. (blu turchese), *S.aureus* (colonie bianche).

FORMULE TIPICHE

Terreno in polvere (g/L)

CHROMOGENIC URINE AGAR IV CLEAR	
Peptoni e fattori di crescita	25,5
Miscela cromogena	0,3
Agar	16,0

Terreno pronto in piastra (g/L)

CHROMOGENIC URINE AGAR IV CLEAR	
Peptoni e fattori di crescita	25,5
Miscela cromogena	0,3
Siero di cavallo (ml/L)	20,0
Agar	16,0

IMPIEGO PREVISTO

Terreno cromogeno di ultima generazione in polvere e pronto in piastra per l'isolamento, preparato senza composto opacizzante, per il conteggio e l'identificazione diretta dei principali microrganismi del tratto urinario: *E.coli*, KES, *Proteus*, enterococchi, stafilococchi, lieviti

DESCRIZIONE

Chromogenic Urine Agar IV Clear è un terreno diagnostico utile per l'isolamento, il conteggio e l'identificazione rapida e presuntiva dei principali patogeni del tratto urinario: *E.coli*, *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (KES), *Proteus-Morganella-Providencia*, enterococchi, stafilococchi, lieviti. Il terreno ha le seguenti caratteristiche:

- Ottima fertilità grazie ad una base nutritiva preparata con peptoni selezionati e standardizzati ed agenti detossificanti.
- Concentrazione dell'agar ottimizzata al fine di impedire la sciamatura e l'invasività delle colonie.

La differenziazione tra i diversi generi e specie microbiche è ottenuta con l'inserimento nel terreno di coltura di:

- Un substrato cromogeno sul quale agisce la β -galattosidasi (GAL) e che produce un metabolita insolubile di colore rosa.
- Un substrato cromogeno sul quale agisce la β -glucosidasi (GLU) e che produce un metabolita insolubile di colore verde blu.
- Triptofano, per evidenziare l'enzima triptofano deaminasi (TDA), ed utile per l'esecuzione del test dell'indolo per la conferma di *E.coli*.

I ceppi che producono β -glucosidasi, come enterococchi ed il gruppo *Klebsiella/Enterobacter/Serratia* (KES), formano colonie da verde a blu, come risultato dell'idrolisi del substrato cromogeno indoxilico. I ceppi di *Escherichia coli* coltivano con colonie rosa-magenta a causa della produzione di β -galattosidasi. Il triptofano, presente nel terreno, è deaminato grazie all'enzima triptofano deaminasi da

Proteus-Morganella-Providencia con formazione di colonie marroni con alone marrone. *E.coli* può essere confermato con il test dell'indolo con l'aggiunta alle colonie di una goccia di Reattivo di Kovacs (il reattivo vira al rosso in caso di positività).

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sciogliere 41,8 g in 1000 ml di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, autoclavare a 121°C per 15 minuti. Mantenendo il terreno in agitazione, raffreddare a circa 45°C e distribuire in piastre Petri. Il terreno si presenta di colore ambra.

Conservare le piastre preparate senza siero di cavallo per non più di 10 giorni. Per conservazioni più prolungate, raffreddare il terreno a 45°C ed aggiungere 20 ml di siero di cavallo sterile prima della distribuzione in piastra.

pH : 7.2 \pm 0,2

CAMPIONI

Campioni di urine raccolti secondo i metodi convenzionali.

METODO D'IMPIEGO

Chromogenic Urine Agar IV Clear può essere usato in accordo alle tecniche di laboratorio convenzionali per l'esecuzione dell'urinocoltura, con semina in superficie di un'aliquota di campione ed incubazione a 37°C per 18-24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Le colonie coltivate sul terreno possono essere identificate con lo schema seguente:

Escherichia coli : colonie rosa-magenta (β -galattosidasi positive, β -glucosidasi negative)
 Test dell'indolo positivo: *E.coli*
 Test dell'indolo negativo: procedere all'identificazione con i metodi convenzionali.

Klebsiella – Enterobacter - Serratia (KES): colonie blu/blu-violetto
 (β -galattosidasi positive, β -glucosidasi positive)
 Esame microscopico: bacilli gram negativi
 Per la definizione del genere/specie, procedere all'identificazione con i metodi convenzionali

Enterococcus spp.: colonie blu turchese (β -galattosidasi neg. , β -glucosidasi pos.)
 Esame microscopico: cocchi gram positivi

Proteus-Morganella-Providencia: (colonie marrone con alone marrone: triptofano deaminasi positive, β -galattosidasi negative, β -glucosidasi negative)
 Test dell'indolo negativo: *Proteus mirabilis*.
 Test dell'indolo positivo: *Providencia* o *Morganella* o *Proteus* spp. indolo + (procedere all'identificazione con i metodi convenzionali),

Stafilococchi e lieviti: colonie bianche (β -galattosidase negative, β -glucosidasi negative)
 Esame microscopico: cocchi gram positivi o lieviti
 Procedere all'identificazione con i metodi convenzionali

MATERIALI NON FORNITI

Reagenti, terreni di coltura accessori e strumentazione di laboratorio necessari.

CONTROLLO QUALITÀ

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio.

Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

Ceppo	Incubazione		Caratteristiche di crescita	
	T° / t / Atm.			
<i>E. coli</i>	ATCC	25922	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie rosa, indolo positive
<i>E. coli</i>	ATCC	8739	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie rosa, indolo positive
<i>K. pneumoniae</i>	ATCC	27736	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie viola
<i>E. cloacae</i>	ATCC	13047	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie blu-grigio
<i>E. aerogenes</i>	ATCC	13048	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie blu chiaro
<i>C. freundii</i>	ATCC	8090	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie rosa-blu chiaro
<i>C. diversus</i>	ATCC	40738	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie grigio-blu
<i>P. mirabilis</i>	ATCC	10005	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie marrone-arancio
<i>S. aureus</i>	ATCC	25923	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie bianche
<i>S. saprophyticus</i>	ATCC	15305	37°C - 24H-A	Buona crescita, piccole colonie rosa
<i>E. faecalis</i>	ATCC	19433	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie da verdi a blu turchese
<i>S. epidermidis</i>	ATCC	12228	37°C - 24H-A	Buona crescita, colonie bianche

A: incubazione in aerobiosi

LIMITI DEL METODO

- L'identificazione ottenuta con il terreno deve essere considerata presunta e confermata con gli opportuni test biochimici. Effettuare la colorazione Gram e l'osservazione microscopica quando vi siano dubbi interpretativi.
- E' riportato in letteratura che alcuni ceppi appartenenti ai generi ed alle specie soprariportati mostrano "pattern" biochimici anomali.
- Con il terreno qui descritto alcuni ceppi di *Citrobacter* spp. possono essere identificati in via presuntiva come *E.coli* (colonie rosa-magenta) poiché sono positivi alla β -galattosidasi e negativi alla β -glucosidasi. L'esecuzione del test dell'indolo sulle colonie con una goccia di reattivo di Kovacs può eliminare molti di questi risultati "falsi positivi per

E.coli (1). Anche l'uso dei test di sensibilità ed il PYR test possono essere utili nel discriminare le colonie rosa magenta di *Citrobacter* spp. da *E.coli* (2)

- All'interno del gruppo *Proteus-Morganella-Providencia*, *P.mirabilis* è indolo negativo e può essere facilmente identificato.
- Per differenziare le diverse specie all'interno del gruppo KES sono necessari test biochimici aggiuntivi.
- Per la differenziazione di *S.agalactiae* dagli enterococchi può essere impiegato il PYR test.
- *S.saprophyticus* e *S.xylosus* coltivano con piccole colonie rosa.
- Per l'identificazione delle colonie che appaiono bianche o incolori impiegare l'osservazione microscopica ed i protocolli biochimici convenzionali.
- L'interpretazione dei risultati di crescita sul terreno deve tenere in considerazione la storia del paziente, l'origine del campione, la morfologia delle colonie, l'osservazione microscopica del ceppo isolato ed eventualmente i risultati di altri test diagnostici.
- Non usare le piastre che appaiono contaminate prima della semina o che abbiano un eccesso di acqua di condensa.
- Portare a temperatura ambiente le piastre prima della loro semina.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritti sono diagnostici *in vitro* per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire i rifiuti in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Scaricare il Certificato d'Analisi del prodotto dal sito www.biolifeitaliana.it

CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare il terreno in polvere nella confezione originale a 2-8°C al riparo della luce. Conservare le piastre pronte all'uso nella scatola a 2-8°C. In queste condizioni i prodotti sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data.

BIBLIOGRAFIA

1. J. D. Perry, L. A. Butterworth, A. Nicholson, M. R. Appleby, and K. E. Orr. J. Clin. Pathol. 2003 Jul; 56(7): 528–531.
2. D. Fallon, N. Andrews, D. Frodsham, B. Gee, S. Howe, A. Iliffe, K. J. Nye, and R. E. Warren J. Clin. Pathol. 2002 Jul; 55(7): 524–529.

CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
ChromArt CHROMOGENIC URINE AGAR IV CLEAR	Terreno in polvere	409810C2	500 g (12,7 L)
ChromArt CHROMOGENIC URINE AGAR IV CLEAR	Piastre pronte all'uso (Ø90mm)	549810C	20 piastre



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.