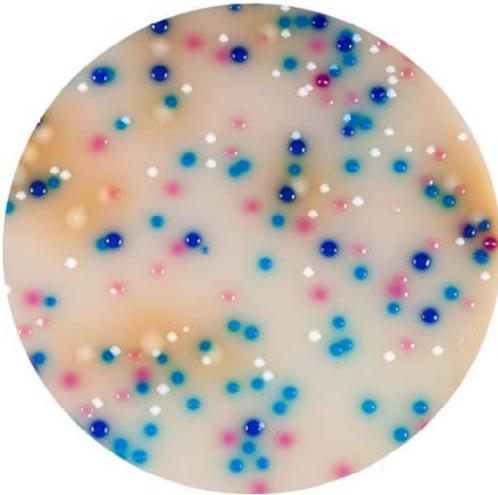


ChromArt

**CHROMOGENIC URINE AGAR IV**

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

**Risposta colturale**

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

**Formule tipiche****Terreno in polvere (g/L)**

ChromArt CHROMOGENIC URINE AGAR IV	
Peptoni e fattori di crescita	24,0
Miscela cromogena	0,4
Composti opacizzanti	10,0
Agar	15,0

**Terreno pronto in piastra (g/L)**

ChromArt CHROMOGENIC URINE AGAR IV	
Peptoni e fattori di crescita	24,0
Miscela cromogena	0,4
Composti opacizzanti	10,0
Siero di cavallo (ml/L)	20,0
Agar	15,0

**Impiego previsto**

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

**Descrizione**

Chromogenic Urine Agar IV 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.
- Lettura dei colori delle colonie facilitata dalla scelta di un fondo di contrasto originale opaco di colore grigio.

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  $\beta$ -galattosidasi (GAL) e che produce un metabolita insolubile di colore rosa.
- Un substrato cromogeno sul quale agisce la  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -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 49,4 g in 1000 ml di acqua distillata 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 grigio, omogeneamente opaco.

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

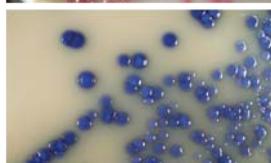
Chromogenic Urine Agar IV (CUA IV) può essere usato in accordo alle tecniche di laboratorio convenzionali per l'esecuzione dell'urinocoltura, con semina in superficie di un'aliquota di campione ed incubazione a 37°C per 18-24 ore.

## Interpretazione dei risultati

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



*Escherichia coli*: colonie rosa-magenta ( $\beta$ -galattosidasi positive,  $\beta$ -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  
 ( $\beta$ -galattosidasi positive,  $\beta$ -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 ( $\beta$ -galattosidasi neg.,  $\beta$ -glucosidasi pos.)  
 Esame microscopico: cocchi gram positivi



*Proteus-Morganella-Providencia*: (colonie marrone con alone marrone: triptofano deaminasi positive,  $\beta$ -galattosidasi negative,  $\beta$ -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 ( $\beta$ -galattosidase negative,  $\beta$ -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 i ceppi utilizzati da Biolife per il controllo di qualità del terreno di base in polvere.

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  $\beta$ -galattosidasi e negativi alla  $\beta$ -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 prodotti dal sito [www.biolifeitaliana.it](http://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	Terreno in polvere	409810G2	500 g (10,1 L)
ChromArt CHROMOGENIC URINE AGAR IV	Piastre pronte all'uso (Ø90mm)	549810G	20 piastre



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