

**ChromArt**

# CHROMOGENIC URINE AGAR IV CLEAR

Terreno di coltura in polvere

## 1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno di coltura cromogenico a fondo chiaro per l'isolamento, il conteggio e l'identificazione presuntiva rapida di microrganismi dalle urine.

## 2 - COMPOSIZIONE – FORMULA TIPICA \*

### FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglimento IN ACQUA \*

Peptoni e fattori di crescita	24,0 g
Miscela cromogena	0,4 g
Agar	22,1 g

\*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche

## 3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Chromogenic Urine Agar IV Clear è un terreno diagnostico, a fondo trasparente, destinato all'isolamento, al conteggio e all'identificazione presuntiva rapida di patogeni del tratto urinario come *E. coli*, *Enterobacter-Klebsiella-Serratia*, *Proteus-Morganella-Providencia*, enterococchi, stafilococchi, lieviti.

La differenziazione tra le specie microbiche o il genere si ottiene mediante:

- Un substrato cromogenico per la  $\beta$ -galattosidasi (GAL), che viene scissa da *E. coli* con il rilascio di un cromoforo rosa-rosso insolubile.
- Un derivato cromogenico del glucopiranoside per la  $\beta$ -glucosidasi (GLU), che viene scisso dagli enterococchi con la formazione di un colorante blu-verde insolubile.
- Triptofano per la rilevazione della triptofano deaminasi (TDA) e per l'esecuzione del test rapido dell'indolo.

I ceppi che producono solo  $\beta$ -galattosidasi, come *E. coli*, crescono con colonie rosa-magenta, mentre i ceppi che producono solo  $\beta$ -glucosidasi, come gli enterococchi, formano colonie dal verde al blu turchese. I batteri che producono entrambi gli enzimi ( $\beta$ -galattosidasi e  $\beta$ -glucosidasi), come il gruppo *Klebsiella/Enterobacter/Serratia* (KES), danno colonie blu scuro o viola. Il triptofano è presente nel terreno per rilevare i membri del gruppo *Proteus*, che generano una colorazione marrone diffusa come risultato dell'attività del triptofano deaminasi. *E. coli* può essere confermato mediante test spot indolo aggiungendo una goccia di reagente di Kovacs alle colonie isolate.

Le principali caratteristiche e vantaggi di Chromogenic Urine Agar IV Clear sono: ottima produttività ottenuta con peptoni selezionati e standardizzati, concentrazione di agar ottimizzata per inibire la sciamatura di *Proteus* spp., miglioramento della differenziazione visiva delle colonie grazie alle forti reazioni cromatiche.

## 4 – INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 46,5 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Portare ad ebollizione con agitazione frequente e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 47-50°C e aggiungere, in condizioni asettiche, 20 mL di Horse Serum. Mescolare bene e versare in piastre di Petri sterili.

## 5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, giallastra
Aspetto della soluzione e delle piastre	giallastra, limpida
pH finale (20-25 °C)	7,2 ± 0,2

## 6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Chromogenic Urine Agar IV Clear	Terreno di coltura in polvere	409810C2	500 g (10,7 L)

## 7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e tamponi sterili, incubatore e attrezzatura da laboratorio secondo necessità, piastre Petri, beute, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie, siero di cavallo.

## 8 – CAMPIONI

Chromogenic Urine Agar IV Clear (CUA IV clear) è destinato all'esame microbiologico delle urine. Raccogliere i campioni prima della terapia antimicrobica, ove possibile. Devono essere applicate le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.<sup>1,2</sup>

## 9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Lasciare che le piastre raggiungano la temperatura ambiente e che si asciughi la superficie del terreno. Mescolare delicatamente l'urina per evitare la formazione di schiuma. Immergere l'estremità di un'ansa calibrata sterile (ad esempio, 1  $\mu$ L o 10  $\mu$ L) nell'urina appena sotto la superficie e rimuoverla verticalmente, facendo attenzione a non trascinarne sul gambo. Utilizzare quest'ansa per inoculare la piastra CUA IV Clear dall'alto verso il basso in una linea verticale e di nuovo dall'alto verso il basso perpendicolarmente a questa linea passando in avanti e indietro. Distribuire l'inoculo di urina su tutta la superficie dell'agar per semplificare il conteggio delle colonie dopo la crescita.

Incubare a 35-37°C in aria per 24-48 ore.

Sebbene la maggior parte dei patogeni del tratto urinario cresca rapidamente, i patogeni a crescita lenta e quelli inibiti dalla presenza di antimicrobici nel campione del paziente potrebbero non comparire dopo l'incubazione notturna (16 h). Eseguire i test dell'esterasi leucocitaria e dei nitriti per determinare quali colture incubare per 48 ore complete. Le colture di urina negative dopo l'incubazione notturna ma con uno o entrambi i test enzimatici positivi devono essere incubate per un altro giorno o re-inoculate su una piastra di agar sangue.<sup>1</sup>

## 10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, contare il numero di colonie (UFC) sulla piastra e registrare le caratteristiche morfologiche e cromatiche, specifiche delle colonie. Se si utilizza un'ansa da 1  $\mu$ L, una colonia equivale a 1000 UFC/mL, se si utilizza un'ansa da 10  $\mu$ L, una colonia equivale a 100 UFC/mL. Gli studi condotti negli anni '50 rimangono la base per l'interpretazione dei risultati dell'urinocoltura che mostrano che conte batteriche  $\geq 10^5$  UFC/mL sono indicative di un'infezione e conte inferiori di solito indicano contaminazione.<sup>2</sup>

In specifici gruppi di pazienti, le conte tra  $10^5$  UFC/mL e  $10^2$  UFC/mL possono essere significative; un isolato puro con conte comprese tra  $10^4$  e  $10^5$  UFC/mL deve essere valutato sulla base di informazioni cliniche o confermato dalla ripetizione della coltura.<sup>2</sup> Per l'urina raccolta mediante puntura della vescica sovrapubica, qualsiasi UFC rilevata indica un'infezione.<sup>2</sup>

Consultare la bibliografia appropriata per i criteri di interpretazione completa della conta microbica.<sup>1,2</sup>





Morfologia tipica delle colonie e interpretazione dei colori su Chromogenic Urine Agar IV Clear:

*Escherichia coli* : colonie rosa ( $\beta$ -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*, da confermare con test dell'ossidasi negativo.  
Test dell'indolo positivo: *Providencia* o *Morganella* o *Proteus* spp. indolo + (procedere all'identificazione con i metodi convenzionali).

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

### 11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti di prodotto vengono messi in vendita dopo l'esecuzione del Controllo Qualità per verificare la conformità alle specifiche. Tuttavia, l'utente finale può eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono elencati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità.<sup>2</sup>

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T°/ T - ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita, colonie rosa
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita, colonie verdi
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita, colonie bianche
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 27736	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita, colonie blu scuro
<i>P. mirabilis</i> ATCC 12453	35-37°C / 18-24H / A	buona crescita, colonie, bluastre non sciamate

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.

### 12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti Chromogenic Urine Agar IV Clear viene testato per la produttività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.

Le caratteristiche di produttività sono testate mediante tecnica ecometrica semi-quantitativa o metodo Modified Miles Misra con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 8739, *P. mirabilis* ATCC 10005, *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. cloacae* ATCC 13047, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *C. freundii* ATCC 8090, *C. diversus* ATCC 40738, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. faecalis* ATCC 19433, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 25923. Dopo incubazione a 37°C per 24 ore vengono valutati e registrati i colori delle colonie e la quantità di crescita. Tutti i ceppi mostrano una buona crescita con colori tipici, secondo le specifiche.

### 13 – LIMITI DEL METODO

- Si consiglia la colorazione di Gram per confermare eventuali reazioni cromatiche dubbie.
- *Citrobacter* spp. possono essere presuntivamente identificati come *E. coli* perché alcuni ceppi sono  $\beta$ -galattosidasi positivi e  $\beta$ -glucosidasi negativi. L'uso di uno spot test dell'indolo elimina con successo alcuni di questi falsi positivi<sup>4</sup>. L'uso di dati di sensibilità o il rilevamento della pirrolidoniil aminopeptidasi (test PYR) può facilitare la differenziazione delle colonie rosa di *Citrobacter* spp. da *E. coli*.<sup>5</sup>
- Tra il gruppo *Proteus-Morganella-Providencia*, *P. mirabilis* è indolo negativo e può essere facilmente riconosciuto.
- L'identificazione biochimica è necessaria per l'identificazione di genere/specie all'interno del gruppo *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*.
- Potrebbe essere necessaria una pirrolidoniil aminopeptidasi (test PYR) per differenziare gli enterococchi da *S. agalactiae*.
- *S. saprophyticus* e *S. xylosus* producono piccole colonie rosa.
- Anche se le colonie microbiche sulle piastre sono differenziate sulla base delle loro caratteristiche morfologiche e cromatiche, del test dell'indolo o della morfologia di Gram, si raccomanda di eseguire test biochimici, immunologici, molecolari o di spettrometria di massa su isolati, da coltura pura, per una completa identificazione. Se necessario e pertinente, eseguire test di sensibilità antimicrobica.

### 14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno disidratato deve essere maneggiato con adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it) il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura preparati.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni ed i supplementi non utilizzati ed i terreni inoculati con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.





- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego dei prodotti, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

### 15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +2°C /+8°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi). L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento).

### 16 - REFERENCES

1. Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.
2. Public Health England UK Standards for Microbiology Investigations. Investigation of urine. Bacteriology, B 41, 2019
3. Guidelines for assuring quality of medical microbiological culture media. The Australian Society for Microbiology, 2<sup>nd</sup> edition, 2012.
4. Perry JD, Butterworth LA, Nicholson A, Appleby MR, Orr KE. J Clin Pathol 2003; 56(7): 528–531
5. Fallon D, Andrews N, Frodsham D, Gee B, Howe S, Iliffe A, Nye KJ, Warren RE. J Clin Pathol 2002; 55(7): 524–529

### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	 Proteggere dall'umidità
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	

### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del Layout	05/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

