

BIOSECTOR 4
BLOOD AGAR SHEEP
MAC CONKEY AGAR MUG
SLANETZ BARTLEY AGAR
Piastre a 3 settori per urinocoltura

BLOOD AGAR SHEEP**FORMULA TIPICA (g/L)**

Idrolizzato pancreatico di caseina	14.5 g
Peptone di soia	5.0
Sodio cloruro	5.0
Agar	14.0
Fattori di crescita	1.5
Sangue defibrinato di montone	50.0 ml

pH 7.3 ± 0.2

MAC CONKEY AGAR MUG**FORMULA TIPICA (g/L)**

Peptone di gelatina	17.000 g
Peptocomplex	3.000
Lattosio	10.000
Sali biliari n. 3	1.500
Sodio cloruro	5.000
Rosso neutro	0.030
Violetto cristallo	0.001
Agar	13.500
MUG	100.000 mg

pH 7.1 ± 0.2

SLANETZ BARTLEY AGAR MOD.**FORMULA TIPICA (g/L)**

Triptosio	20.0 g
Estratto di lievito	5.0
Glucosio	2.0
Sodio fosfato bibasico	4.0
Agenti selettivi	0.82
TTC	0.1
Agar	10.0

pH 7,2 ± 0,2

DESCRIZIONE

La piastra a 3 settori con i terreni Agar Sangue, Mac Conkey Agar MUG e Slanetz Bartley Agar Mod., è adatta all'esame microbiologico delle urine. Sui terreni è possibile determinare la carica microbica totale, i batteri Gram negativi e gli enterococchi.

E' noto che i terreni con sodio azide non possono essere abbinati, nelle piastre a più settori preparate in laboratorio, poiché inibiscono considerevolmente la crescita sui terreni vicini e inducono la lisi dei globuli rossi dei terreni al sangue contigui.

Biolife ha messo a punto un metodo di produzione industriale specifico e formulazioni bilanciate tali per cui il terreno Slanetz Bartley Agar Mod., estremamente selettivo, non ha alcun effetto negativo sulle crescite nei settori della piastra riempiti con Agar Sangue e Mac Conkey Agar MUG. Estensive prove di laboratorio e l'uso in numerosi laboratori in Italia ed all'estero testimoniano dell'assoluta compatibilità del terreno Slanetz Bartley Agar Mod. Biolife con i terreni dei settori contigui della piastra.

Ogni piastra riporta una scritta con il nome, il numero di lotto e la data di scadenza. Ogni lotto di produzione è sottoposto a rigorosi controlli di qualità microbiologici e chimico fisici.

Blood Agar Sheep è preparato con un terreno di base che include un idrolisato di caseina, un peptone di soia di qualità selezionati, e fattori di crescita che garantiscono lo sviluppo ottimale degli streptococchi ed una fertilità superiore nei confronti dei microrganismi esigenti. L'attività emolitica dei batteri è ottimale sia grazie al terreno di base che all'impiego di sangue animale standardizzato e di elevata qualità.

Mac Conkey Agar MUG è stato il primo terreno al MUG introdotto commercialmente sul mercato in Europa, nel 1983, da Biolife. Mac Conkey Agar MUG trova soprattutto impiego in microbiologia clinica per l'urinocoltura, abbinato all'agar sangue e/o al terreno di Slanetz e Bartley. Abbinato al terreno Blood Agar, il Mac Conkey Agar MUG è stato oggetto di valutazione clinica da parte di Vaiani e coll. (1985). Sull'agar sangue si eseguono la conta batterica totale ed il test dell'indolo; su Mac Conkey Agar MUG si esegue la conta dei batteri Gram negativi, si osserva la fermentazione del lattosio e l'idrolisi del MUG. L'idrolisi del MUG deve essere valutata in ambiente in penombra sotto lampada UV che emetta a 366 nm; la positività al test è data dalla presenza di una fluorescenza azzurra attorno alle colonie. Il test dell'indolo può essere eseguito aggiungendo alle colonie coltivate su agar sangue una goccia di reattivo di Kovacs. La comparsa di una colorazione porpora nel liquido, meglio osservabile se si convoglia il reattivo, dopo che è stato a contatto con la colonia, sul bordo della piastra, indica la positività al test dell'indolo. Il test dell'indolo non è eseguibile su colonie coltivate su terreni lattosati. In un'indagine su 1.580 urino-culture impiegando piastre a due settori con Mac Conkey Agar MUG e agar sangue, Vaiani e coll. riportano che, abbinando i caratteri idrolisi del MUG, indolo, fermentazione del lattosio, è possibile identificare l'88% dei ceppi di *E. coli*. L'aggiunta di MUG al Mac Conkey Agar non interferisce con le normali caratteristiche di fertilità e di selettività del terreno. Se si considera che nell'esame batteriologico delle urine il riscontro di *Escherichia coli* rappresenta il 50-60% di tutte le urino-culture positive, risulta chiaro come la possibilità di identificare *E. coli* direttamente sulla piastra d'isolamento, senza ricorrere all'impiego di altre reazioni biochimiche aggiuntive o di kits con reazioni multiple, rappresenti un notevole risparmio di tempo e una sensibile diminuzione nei costi d'analisi.

Slanetz Bartley Agar Mod. è un terreno selettivo indicato per l'isolamento e il conteggio degli enterococchi. La presenza di uno specifico agente selettivo inibisce lo sviluppo di tutti i germi contaminanti eventualmente associati, mentre il cloruro di trifeniltetrazolio funge da indicatore: i microrganismi che lo riducono coltivano con colonie rosse. Il terreno risulta essere molto selettivo, per cui si possono considerare enterococchi tutte le colonie che coltivano con il caratteristico colore rosso o rosso-mattone.

IMPIEGO

Seminare 1 µl di urina su ciascun settore della piastra e strisciare su tutta la superficie per ottenere colonie isolate.

Incubare a 37°C per 18-24 ore

Dopo incubazione la presenza di batteri è evidenziata dalla comparsa di colonie sulle superfici dei terreni colturali. Il numero di colonie indica la concentrazione delle Unità Formanti Colonia (UFC/ml). La carica microbica totale del campione di urina è effettuata su Blood Agar. Su Mac Conkey Agar MUG si valuta la carica di batteri Gram negativi e si effettua l'identificazione delle colonie di *E.coli* che appaiono fluorescenti quando la piastra sia osservata sotto lampada di Wood; la conferma di *E.coli* può essere ottenuta eseguendo il test dell'indolo depositando una goccia di reattivo di Kovacs' sulle colonie di agar sangue: lo sviluppo di una colorazione rossa entro 30 secondi nel reattivo indica la positività al test dell'indolo. Su Slanetz Bartley Agar Mod. si valuta la carica enterococcica: i batteri del genere *Enterococcus* coltivano con colonie rosse o rosa.

Sebbene la maggior parte dei microrganismi coltivati entro le 24 ore di incubazione, vi possono essere nei campioni microrganismi a crescita lenta o la presenza di antibiotici che inibisce la crescita durante l'incubazione "overnight". Le urinocolture che risultano negative dopo le 24 ore dovrebbero essere sottoposte al test della leucocito-esterasi ed al test dei nitriti. In caso di positività ad uno o ad entrambi i test, re-incubare per 24 ore aggiuntive. Nel caso i due test fossero negativi, refertare come "assenza di crescita microbica".

Poiché l'uretra non è un sito sterile ma è colonizzata da vari tipi di microrganismi, la presenza di colonie sui terreni di coltura non è di per se indice di infezione del tratto urinario, a meno che il campione non sia stato prelevato in asepsi con puntura sovrapubica. Per l'interpretazione dei risultati quantitativi dell'urinocoltura possono essere tenute in considerazione le seguenti linee guida (Tan J.S. 2002)

Campione	Carica microbica significativa
Paziente femminile con cistite, <i>mitto intermedio</i>	$> 10^2$
Paziente femminile con pielonefrite, <i>mitto intermedio</i>	$> 10^5$
Batteriuria asintomatica	$> 10^5$
Paziente maschile con UTI, <i>mitto intermedio</i>	$> 10^3$
Pazienti con catetere	$> 10^2$
Pazienti con catetere permanente	$> 10^3$

Nota: in alcuni casi, l'urina rimasta in vescica per meno di 4 ore può dare conte microbiche $< 10^3$

RICONOSCIMENTO DEI TERRENI

Blood Agar: terreno colore rosso sangue; Mac Conkey Agar MUG: terreno color rosso-viola; Slanetz Bartley Agar: terreno colore giallo chiaro

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Le piastre pronte per l'uso qui descritte non sono classificate come pericolose ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$ pertanto non richiedono la disponibilità della scheda di sicurezza. Le piastre pronte per l'uso qui descritte sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usate in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

Bibliografia

- Vaiani, R., e coll. (1985) - Identificazione di *E. coli* su terreni contenenti MUG. Comunicazione Convegno AMCLI Lombardia, Varenna, 21/06/1985
- Burkwall, M. K. & Hartman P.A. (1964)- App. Microbiol. 12, 18.
- Department of Health and Social Security (1969) - Report n. 71, 4th Ed., London. HMSO.
- OMS (1965) - Normes Internationales pour l'Eau de Boisson, Deuxième édition.
- Slanetz L.W. & Bartley, C.H. (1957)- J. Bact., 74, 591.
- Tan J.S. (ed.). 2002. Expert Guide to Infectious Diseases. American College of Physicians, Philadelphia, Pa.
- Taylor, E.W. and N.P. Burman (1964) - J. App. Bact. 27, 294-303.

CONFEZIONI**Biosector 4**

491004 Blood Agar Sheep/Mac Conkey Agar MUG/Slanetz Bartley Agar Mod. 20 piastre

CND:W0104010407

