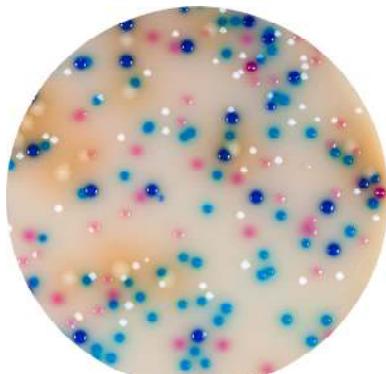


**ISTRUZIONI PER L'USO****ChromArt****CHROMOGENIC URINE AGAR IV****Piastre pronte all'uso**

ChromArt Chromogenic Urine Agar IV: *E.coli* (colonie rosa-magenta), *K.pneumoniae* (colonie blu intenso), *Enterococcus* sp. (colonie blu turchese), *S.aureus* (colonie bianche), *Proteus* sp. (colonie marroni)

**1 - DESTINAZIONE D'USO**

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno cromogeno per l'isolamento, il conteggio e l'identificazione presuntiva dei principali microrganismi del tratto urinario.

**2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA \***

Peptoni e fattori di crescita	24,0 g
Miscela cromogena	0,4 g
Composto opacizzante	6,2 g
Siero di cavallo	20,0 mL
Agar	15,0 g
Acqua purificata	1000 mL

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

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

Negli ultimi 25 anni, i terreni di coltura cromogenici hanno trovato applicazione diffusa nella microbiologia clinica diagnostica. Biolife nel 1997 ha proposto un mezzo cromogenico e fluorogenico per la diagnosi delle infezioni del tratto urinario chiamato Chromogenic Urine Agar, nel quale la differenziazione batterica era ottenuta con la determinazione della  $\beta$ -glucuronidasi, della  $\beta$ -glucosidasi e della  $\beta$ -xilosidasi. Questo primo terreno cromogeno è stato oggetto di miglioramenti successivi nel corso degli anni con lo sviluppo di terreni di nuova generazione. L'ultimo proposto da Biolife per la batteriologia urinaria è il Chromogenic Urine IV, terreno cromogeno destinato all'isolamento, all'enumerazione e all'identificazione rapida presuntiva degli agenti patogeni del tratto urinario come *E.coli*, *Enterobacter-Klebsiella-Serratia* - (KES), *Proteus-Morganella-Providencia*, Enterococchi, Stafilococchi, lieviti.

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) con il rilascio di un metabolita insolubile di colore rosa.
- Un substrato cromogeno sul quale agisce la  $\beta$ -glucosidasi (GLU) con il rilascio un metabolita insolubile di colore verde blu.
- Triptofano, per evidenziare l'enzima triptofano deaminasi (TDA) ed utile per l'esecuzione del test rapido dell'indolo

I ceppi che producono la sola  $\beta$ -galattosidasi, come *E.coli* coltivano con colonie rosa-magenta, i ceppi che producono la sola  $\beta$ -glucosidasi, come gli enterococchi formano colonie da verde a blu turchese; i batteri del gruppo *Klebsiella/Enterobacter/Serratia* (KES), producono entrambi gli enzimi,  $\beta$ -glucosidasi e  $\beta$ -galattosidasi e formano colonie da blu intenso a blu-violetto. 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).

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.

**4 - CARATTERISTICHE FISICHE**

Aspetto	opaco, grigiastro
pH finale a 20-25 °C	7,2 $\pm$ 0,2

**5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Chromogenic Urine Agar IV	Piastre pronte all'uso	549810G	2 x 10 piastre $\varnothing$ 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

**6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI**

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

**7 - CAMPIONI**

Chromogenic Urine Agar IV (CUA IV) è destinato all'esame microbiologico di campioni clinici come l'urina. Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.<sup>1,2</sup>

**8 - PROCEDURA DELL'ANALISI**

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno. Mescolare delicatamente l'urina per evitare la formazione di schiuma. Immergere l'estremità dell'ansa sterile (ad es. 1 $\mu$ L o 10 $\mu$ L) nell'urina appena sotto la superficie e rimuoverla verticalmente, facendo attenzione a non trasportare il campione sull'asta dell'ansa. Strisciare l'ansa dall'alto verso il basso con una linea verticale e di nuovo dall'alto verso il basso perpendicolarmente a questa linea. Disperdere l'inoculo in modo omogeneo su tutta la





superficie dell'agar per semplificare il conteggio delle colonie dopo la crescita. Incubare a 35-37 °C in aerobiosi ed osservare dopo 18-24 e 48 ore.

Sebbene la maggior parte dei microrganismi coltivati entro le 24 ore di incubazione, vi possono essere nel campione microrganismi a crescita lenta o la presenza di antibiotici che inibisce la crescita (es. streptococchi) 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 e/o seminare il campione su piastre di agar-sangue.

### 9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

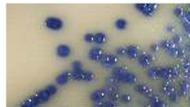
Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, contare le colonie sviluppate sulla piastra (UFC) e registrarne ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica. Se viene utilizzata un'ansa da 1 µL, una colonia equivale a 1000 UFC/mL nel campione, se viene utilizzato un'ansa da 10 µL, una colonia equivale a 100 UFC/mL. Gli studi condotti negli anni '50 rimangono la base per interpretare i risultati dell'urinocoltura: una conta microbica  $\geq 10^5$  UFC/mL è indicativa di un'infezione in corso, conte al di sotto di questa soglia, di solito, indicano una contaminazione.<sup>2</sup> In specifici gruppi di pazienti possono però essere significativi conteggi compresi tra  $10^5$  CFU/mL e  $10^2$  CFU/mL; se un microrganismo è presente in coltura pura, con una carica compresa tra  $10^4$  e  $10^5$  UFC/mL, il risultato deve essere valutato sulla base delle informazioni cliniche o confermato da colture ripetute.<sup>2</sup> Per l'urina raccolta con puntura sovrapubica la presenza di una qualsiasi carica microbica è indice di un'infezione in corso.<sup>2</sup>

Consultare gli appropriati riferimenti bibliografici per i criteri completi di interpretazione dei risultati dell'urinocoltura.<sup>1,2</sup>

Le colonie coltivate sul terreno possono essere presuntivamente 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



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

### 10 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.<sup>9</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 in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

### 11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre di Chromogenic Urine Agar IV e della materia prima impiegata per la produzione (terreno in polvere Chromogenic Urine Agar IV REF 409810G) sono testati per la produttività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento ed un lotto di Tryptic Soy Agar (TSA).

La produttività è saggiata con metodo quantitativo con il ceppo *S. aureus* ATCC 25923. Le piastre di CUA IV e di TSA sono seminate con appropriate diluizioni in soluzione salina di una sospensione di colonie del ceppo target. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore in aerobiosi vengono contate le colonie sviluppate sul lotto in esame e sul TSA e calcolato l'indice di produttività ( $Pr = \frac{UFC_{CUA\ IV}}{UFC_{TSA}}$ ). Nel caso tale indice sia superiore a 0,5 e nel caso il colore delle crescite sia tipico (colonie bianche), i risultati sono giudicati conformi.

Inoltre la produttività del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo con i seguenti ceppi: *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 8739, *P. mirabilis* ATCC 12453, *E. aerogenes* ATCC 13048, *K. pneumoniae* ATCC 27736, *C. freundii* ATCC 8090, *C. diversus* ATCC 40738, *S. saprophyticus* ATCC 15305, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. epidermidis* ATCC 12228, *C. albicans* ATCC 10231. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 h ore in aerobiosi si osservano le caratteristiche cromatiche dei ceppi e l'entità delle crescite. Tutti i ceppi mostrano colori tipici ed in accordo alle specifiche e buone crescite, comparabili nel lotto in esame e nel Lotto di Riferimento.



**12 - LIMITI DEL METODO**

- Effettuare la colorazione Gram e l'osservazione microscopica quando vi siano dubbi interpretativi.
- 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*".<sup>4</sup> 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*.<sup>5</sup>
- All'interno del gruppo *Proteus-Morganella-Providencia*, *P.mirabilis* è indolo negativo e può essere facilmente differenziato.
- Per differenziare le diverse specie all'interno del gruppo *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, sono necessari test biochimici aggiuntivi.
- Per la differenziazione di *S.galactiae* dagli enterococchi può essere impiegato il PYR test.
- *S.xylosum* coltiva con piccole colonie rosa, *S.saprophyticus* con piccole colonie blu.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, del test dell'indolo o della colorazione Gram, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

**13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE**

- Il terreno in piastra qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo semi-quantitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali 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 d'uso 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.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto 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 del prodotto, 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.

**14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ**

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

**15 - BIBLIOGRAFIA**

1. McElvania E, Singh K. Specimen Collection, Transport and Processing: Bacteriology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
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**

<b>REF</b> o REF Numero di catalogo	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Non riutilizzare	Fragile maneggiare con cura

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 5	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	05/2020
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 6	Aggiornamento composizione e formula tipica	06/2021
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 7	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

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

