



BBL Urea Agar Base Concentrate 10X

BBL Urea Agar Slants, Complete

CE

L007521 • Rev. 11 • Rujan 2015.

POSTUPCI KONTROLE KVALITETE (Neobavezno)

I UVOD

Agar Urea diferencijalna je podloga za članove vrste *Enterobacteriaceae* na temelju njihove sposobnosti da stvaraju ureazu.

II POSTUPAK ISPITIVANJA UČINKOVITOSTI

- A. Upute za pripremanje potpune podloge iz baze agara Urea koncentracije 10X (Urea Agar Base Concentrate 10X)
 1. Da biste pripremili podlogu agara Urea, dodajte 1,7 g granuliranog agara u 100 mL pročišćene vode. Zagrijavajte uz agitaciju i prokuhajte 1 min.
 2. Prebacite 9 mL alikvota u epruvete i sterilizirajte autoklavom na 121°C 15 min.
 3. Ohladite agar na 45 – 50°C, i pričekajte da jedna epruveta s koncentratom postigne sobnu temperaturu. Dodajte 1 mL koncentrata u svakih 9 mL ohlađene agarne otopine i dobro izmiješajte.
 4. Pričekajte da se epruvete ohlade u kosom položaju kako bi se stvorile podloge na krajevima.
- B. Ispitivanje potpune podloge (kosi agari Urea [Urea Agar Slants])
 1. Inokulirajte reprezentativne uzorke s dolje navedenim kulturama.
 - a. Pomoću ušice kalibrirane na 0,01 mL inokulirajte površine kosog agara s jakim inokulatom pomoću kulture kosog sojinog agara *Trypticase* od 24 – 48 h. Ne inokulirajte podlogu s krajeva.
 - b. Inkubirajte epruvete s popuštenim čepovima na 35 ± 2°C u aerobnoj atmosferi.
 2. Pregledajte epruvete nakon 2, 4, 6 i 24 h i provjerite rast i reakcije.
 3. Očekivani rezultati

Organizam	ATCC	Reakcija ureaze
* <i>Proteus vulgaris</i>	8427	+ (Intenzivno ružičastocrvene do crvenoljubičaste boje)
<i>Morganella morganii</i> podsk. <i>morganii</i>	8019	+ (Intenzivno ružičastocrvene do crvenoljubičaste boje)
* <i>Salmonella enterica</i> podskup. <i>enterica</i> serotip <i>Typhimurium</i>	13311	– (bez promjene boje)

*Preporučeni soj organizama za korisničku kontrolu kvalitete.

NAPOMENA: Ta se podloga provjerava u korisničkom ispitivanju kontrole kvalitete prema standardu CLSI M22-A3.

III DODATNA KONTROLA KVALITETE

1. Provjerite epruvete prema objašnjenju iz poglavlja „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.
2. Vizualno pregledajte reprezentativne epruvete kako biste utvrdili da nemaju fizičkih oštećenja koja mogu utjecati na upotrebu.
3. Odredite potenciometrom pH vrijednost na sobnoj temperaturi kako biste provjerili odgovara li propisanim vrijednostima 6,8 ± 0,2.
4. Inkubirajte neinokulirane reprezentativne epruvete na 20 – 25°C i 30 – 35°C te nakon 7 dana potražite znakove kontaminacije mikrobioma.

INFORMACIJE O PROIZVODU

IV NAMJENA

Agar Urea koristi se za diferencijaciju organizama, posebno za vrste *Enterobacteriaceae* na temelju stvaranja ureaze.

V SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Agar Urea stvorio je Christensen za upotrebu u obliku čvrste podloge za diferencijaciju enteričnih bacila.¹ Diferencira brzorastuće ureaza-pozitivne organizme *Proteaceae* (*Proteus* spp., *Morganella morganii* podskup. *morganii*, *Providencia rettgeri* i neke *Providencia stuartii*) i ostale ureaza-pozitivne organizme: *Citrobacter*, *Enterobacter* i *Klebsiella* i bakterije koje nisu vrste *Enterobacteriaceae*; odnosno, dio vrsta *Bordetella* i *Brucella*.²

Baza također sadrži filterski steriliziranu otopinu koncentracije 10X u epruvetama za pripremanje kosi agara Urea u korisničkom laboratoriju.

VI NAČELA POSTUPKA

Podloga urea koju su stvorili Rustigian i Stuart³ posebno je pogodna za diferencijaciju vrsta *Proteus* iz gram-negativnih enteričnih bacila koji mogu stvoriti ureu;¹ posljednje navedena vrsta ne može to učiniti u ispitnom bujonom ureaze zbog limitirane količine nutrijenata i velikog puferskog kapaciteta podloge. Za bolje rezultate s podlogom, Christensen¹ je osmislio agar Urea s peptonom i dekstrozom i smanjenim puferskim kapacitetom kako bi postigao veći rast većine vrsta *Enterobacteriaceae* te omogućio skraćeno vrijeme inkubacije.

Kad organizmi stvaraju ureu, nastaje amonijak tijekom inkubacije pa reakcijom nastaje alkana podloga s ružičastocrvenom bojom. Prema tome, stvaranje ureaze može se uočiti promjenom crvenog fenolnog indikatora.

VII REAGENSI

Urea Agar Base Concentrate 10X

Približna formula* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija želatine.....	10,0 g	Kalijev fosfat	20,0 g
Dekstroza	10,0 g	Urea.....	200,0 g
Natrijev klorid.....	50,0 g	Fenol crveni	0,12 g

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se uđovoljilo kriterijima učinkovitosti.

Urea Agar Slants, Complete

Približna formula* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija želatine.....	1,0 g	Urea	20,0 g
Dekstroza	1,0 g	Fenol crveni	0,012 g
Natrijev klorid.....	5,0 g	Agar.....	15,0 g
Kalijev fosfat	2,0 g		

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se uđovoljilo kriterijima učinkovitosti.

Upozorenja i mjere opreza:

Za *in vitro* dijagnostiku.

Epruvete sa zategnutim čepovima treba oprezno otvarati kako ne bi došlo do ozljeda pri pucanju stakla.

Primjenjujte aseptične tehnike i utvrđene mjere opreza protiv mikrobioloških opasnosti tijekom svih postupaka.

Pripremljene epruvete, spremnike uzoraka i druge kontaminirane materijale sterilizirajte u autoklavu prije odlaganja u otpad.

221100 BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, pakiranje od 10 epruveta veličine K

Upozorenje



H315 Nadražuje kožu. **H319** Uzrokuje jako nadraživanje oka.

P103 Prije uporabe pročitati naljepnicu. **P264** Nakon uporabe temeljito oprati **P280** Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. **P305+P351+P338** U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ukoliko ih nosite i ako se one lako uklanjuju. Nastaviti ispiranje.

Upute za čuvanje: Epruvete po primitku čuvajte na tamnom mjestu na temperaturi od 2 – 8°C. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Otvorite neposredno prije upotrebe. Hranjive podloge u epruvetama koje se čuvaju prema uputama na naljepnici prije same upotrebe mogu se inkulirati sve do isteka roka valjanosti i inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije. Smanjite izlaganje svjetlosti na najmanju moguću mjeru.

Pogoršanje kvalitete proizvoda: Ne upotrebljavajte epruvete ako pokazuju vidljive znakove kontaminacije mikrobima, promjene boje, sušenja ili ostale znakove pogoršanja kvalitete.

VIII PRIKUPLJANJE UZORAKA I RUKOVANJE

Uzorci pogodni za hranjivu podlogu mogu se obraditi raznim tehnikama. Detaljne informacije potražite u odgovarajućim tekstovima.^{4,5} Uzorce treba uzeti prije obrade protumikrobnih agensa. Potrebno je izraditi propise za brzu dostavu u laboratorij.

IX POSTUPAK

Priloženi materijal: Urea Agar Base Concentrate 10X (baza agar-a Urea koncentracije 10X) ili Urea Agar Slants, Complete (potpuni kosi agar Urea)

Potreban materijal koji se nabavlja zasebno: dodatne hranjive podloge, reagensi, organizmi za kontrolu kvalitete i laboratorijska oprema prema potrebi.

Postupak ispitivanja: Primjenjujte aseptične tehnike.

Ako koristite bazu agar Urea koncentracije 10X, pripremite potpunu podlogu kao što je opisano u poglavlju Kontrola kvalitete. Ako se u koncentraciji stvore kristali, obično se rastope na sobnoj temperaturi ili za nekoliko minuta u vodenoj kupelji na 40°C.

Pomoću inkuluma jakog rasta čiste kulture od 18 do 24 h (agar TSI ili druga pogodna podloga), naprijed-natrag razmažite cijelu kosu površinu. Nemojte štapićem ubosti podlogu jer služi kao kontrola boje. Inkubirajte epruvete s popuštenim čepovima na $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ u inkubatoru ili u vodenoj kupelji. Provjerite reakcije nakon 2, 4, 6 i 24 h te svaki dan od ukupno 6 dana. Možda će biti i duža razdoblja inkubacije.

Korisnička kontrola kvalitete: Pogledajte poglavje „Postupci kontrole kvalitete“.

Svaka serija podloga ispitana je pomoću odgovarajućih organizama za kontrolu kvalitete, a ta su ispitivanja, kada je to bitno, uskladena sa specifikacijama i standardima instituta CLSI. Kao i uvek, ispitivanja za kontrolu kvalitete moraju se provoditi u skladu s važećim lokalnim, državnim, saveznim ili nacionalnim propisima, uvjetima akreditiranja i/ili standardnim postupcima kontrole kvalitete vašeg laboratorija.

X REZULTATI

Stvaranje ureaze pokazuje se intenzivno ružičastocrvenom (crvenoljubičastom) bojom kose podloge. Boja može penetrirati u agar (krajeve); razina boje pokazuje stupanj hidrolize uree.⁶

Negativna reakcija nema promjene boje; podloga agar ostaje blago žuta do prljavožuta.

Za popis ureaza-pozitivnih organizama provjerite odgovarajuće članke.^{5,7,8}

XI OGRANIČENJA POSTUPKA

1. Ova ispitivanja podloge urea baziraju se na stvaranju alkalne otopine; prema tome, ne odnose se samo na ureazu. Korištenjem peptona, posebno za kosi agar (npr. za vrste *Pseudomonas aeruginosa*) ili druge proteine u podlozi mogu povećati pH do alkalnosti zbog hidrolize i stvaranja veće količine ostataka aminokiselina, što daje lažno pozitivne reakcije.²
2. Na agaru Urea, ureaza-pozitivne vrste *Proteae* uzrokuju da podloga postane alkalna ubrzo nakon inokulacije. Da bi rezultati bili valjani u slučaju detekcije vrste *Proteae*, rezultate treba očitati u prvih 6 h inkubacije. *Citrobacter freundii* i *Klebsiella pneumoniae* podsk. *pneumoniae* mogu stvoriti pozitivne reakcije u roku 24 – 48 h.²
3. Za identifikaciju, organizmi moraju biti u čistoj kulturi. Za konačnu identifikaciju potrebno je provesti morfološka, biokemijska i/ili serološka ispitivanja. U odgovarajućim poglavljima potražite dodatne informacije i preporučene postupke.^{4,5,7}

XII RADNA SVOJSTVA

Kantor i suradnici razvili su brzu i pojednostavljenu shemu, pomoću minimalno tri ispitivanja, a maksimalno sedam, mogu se koristiti rutinski u laboratorijima za identifikaciju gram-negativnih bakterija koje ne fermentiraju. Pomoć te sheme ukupno je identificirano 229 nepoznatih gram-negativnih bakterija koje ne fermentiraju i 14 referentnih sojeva. Agar Urea korišten je za diferencijaciju vrsta *Alcaligenes* i *Pseudomonas alcaligenes* od vrsta *Bordetella bronchiseptica*.⁹

XIII DOSTUPNOST

Kat. br.	Opis
221100	BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, pakiranje od 10 epruveta veličine K
221096	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, pakiranje od 10 epruveta veličine K
221097	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, pakiranje od 100 epruveta veličine K

XIV REFERENCE

1. Christensen, W.B. 1946. Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and *paracolon* cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* types. *J. Bacteriol.* 52:461-466.
2. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacterial, 3rd ed., Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Rustigan, R., and C.A. Stuart. 1941. Decomposition of urea by *Proteus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 47:108-112.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaffer and R.H. Yolken (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
6. Ewing, W.H. 1985. *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Farmer, J.J., III. 1999. *Enterobacteriaceae: introduction and identification*, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaffer, F.C. Tenover, and R.H. Yolken (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Kantor, L.T., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Technol.* 41:3-9.

Tehnički servis i podrška na BD Diagnostics: obratite se lokalnom predstavniku tvrtke BD ili posjetite www.bd.com/ds.



 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD