

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Rapid Urea Broth (Schnelltest-Harnstoff-Bouillon) dient zur präsumtiven Identifizierung von *Helicobacter pylori* in Antrum-Magenbiopsieproben.

II TESTDURCHFÜHRUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Direkt von einer frischen, auf **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood gezüchteten Stammkultur inokulieren.
 - b. Fläschchen mit gelösten Verschlusskappen 24 h bei 36 ± 1 °C in einer aeroben Atmosphäre inkubieren.
2. Die Fläschchen in Intervallen von 1, 4 und 24 h auf Farbumschlag der Bouillon untersuchen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

Organismen	ATCC	Bouillonfarbe
<i>Campylobacter coli</i>	834	Keine Reaktion bis leicht pink nach 24 h
<i>Campylobacter jejuni</i>	29428	Keine Reaktion nach 24 h (blassgelb-orange)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Keine Reaktion nach 24 h (blassgelb-orange)
* <i>Helicobacter pylori</i>	43504	Mittelrot bis rosa innerhalb von 4 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33495	Keine Reaktion nach 4 h, leicht pink bis mittelrot nach 24 h
<i>Proteus vulgaris</i>	8427	Rosarot nach 24 h

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Fläschchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben untersuchen.
2. Repräsentative Fläschchen sichtprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert potentiometrisch bei Raumtemperatur überprüfen, um festzustellen, ob die Spezifikation von $6,8 \pm 0,2$ eingehalten wird.
4. Nicht inokulierte repräsentative Fläschchen 72 h lang bei $33 - 37$ °C und $20 - 25$ °C inkubieren und im Hinblick auf mikrobielle Kontamination untersuchen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Rapid Urea Broth (Schnelltest-Harnstoff-Bouillon) dient zur präsumtiven Identifizierung von *Helicobacter pylori* in Antrum-Magenbiopsieproben.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Das Vorliegen kleiner gekrümmter und s-förmiger Bazillen in Antrum-Magenbiopsieproben wurde erstmals im Jahre 1983 von Warren und Marshall berichtet.¹ Später beobachteten andere Forscher einen Zusammenhang zwischen diesem, heute als *Helicobacter pylori* bekannten Organismus und Gastritis.²⁻⁴ Jedoch kann die Isolierung und Identifizierung des Organismus auf Primärmedien bis zu 7 Tage dauern, was die Behandlung verzögert.⁵

McNulty entwickelte einen diagnostischen Schnelltest auf *Helicobacter*-assoziierte Gastritis. Nachdem er bemerkt hatte, dass eine rasche Harnstoffhydrolyse charakteristisch für *H. pylori* ist, gab er Biopsieproben in 2%ige Christensen-Harnstoff-Bouillon und stellte einen Farbumschlag fest. Je nach der Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen, können positive Ergebnisse bereits nach weniger als 1 h zu beobachten sein.⁶

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das Enzym Urease katalysiert die Harnstoffhydrolyse zu Ammoniak- und Bikarbonationen. Da es sich bei der Urease nicht um ein Humanenzym handelt, ist ihre Aktivität in der Magenschleimhaut in erster Linie auf das Vorliegen von *H. pylori* zurückzuführen.⁷ Das in den Biopsieproben bereits vorhandene Urease-Enzym macht die Urease-Bouillon alkalisch und bewirkt einen Farbumschlag des Phenolrot-Indikators im Medium zu rosarot.

VII REAGENZIEN

Rapid Urea Broth

Ungefähre Zusammensetzung* pro Liter destilliertes Wasser

Pankreatisch abgebaute Gelatine.....	1,0	g
Dextrose.....	1,0	g
Natriumchlorid.....	5,0	g
Kaliumphosphat.....	2,0	g
Harnstoff.....	20,0	g
Phenolrot.....	0,012	g

*Nach Bedarf auf die geforderten Testkriterien abgestimmt und/oder ergänzt.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen: *In-vitro*-Diagnostikum.

Fläschchen mit fest sitzenden Verschlusskappen sind vorsichtig zu öffnen, um Verletzungen auf Grund von Glasbruch zu vermeiden.

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Artikeln sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“⁸⁻¹¹ sowie die einschlägigen Institutionsrichtlinien zu beachten. Vor der Entsorgung müssen Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklaven sterilisiert werden.

Aufbewahrung: Fläschchen nach Erhalt bei 2 bis 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Bis unmittelbar vor Gebrauch gemäß der Kennzeichnung aufbewahrte Fläschchen können bis zum Verfallsdatum inokuliert und während der empfohlenen Inkubationszeit inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts: Fläschchen bei Anzeichen von Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Niederschlag, Verdunstung oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Proben von Antrum-Magenbiopsien können unmittelbar in Rapid Urea Broth, sterile Kochsalzlösung oder sonstige geeignete Substanzen gegeben werden.^{12,13} Die Proben sollten vor der Anwendung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Rapid Urea Broth

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren: Nach der Probennahme mittels Antrum-Magenbiopsie die Probe unverzüglich in Rapid Urea Broth geben. Wurde die Probe in Kochsalzlösung im Labor eingeliefert, sollte sie unverzüglich in Rapid Urea Broth transferiert werden. Die Fläschchen bei 35 ± 2 °C in einen Inkubator geben und im Hinblick auf die Ausbildung einer roten Färbung innerhalb von 1 h kontrollieren. Bei negativem Resultat die Inkubation fortsetzen und bis zu 4 h lang in regelmäßigen Zeitabständen kontrollieren.

Qualitätskontrolle durch den Anwender: Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, die relevanten CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle einzusehen.

X ERGEBNISSE

Das Vorliegen von Urease ist ersichtlich aus einer intensiven rosaroten Färbung der gesamten Bouillon. Eine negative Reaktion bewirkt keinen Farbumschlag; d.h., die Bouillon behält die gelborange Färbung. Die Ergebnisse mittels Gramfärbung und Subkultivierung auf einem geeigneten Medium, wie bspw. Skirrows-Medium, bestätigen.^{7,12,13}

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Harnstoff-Testmedien stützen sich auf den Nachweis der Alkalinität. Sie sind daher nicht spezifisch für Urease. Bei Verwertung von Peptonen durch kontaminierende Organismen oder sonstige Proteine im Medium kann der pH-Wert durch Proteinhydrolyse und durch Freisetzung von überschüssigen Aminosäurerückständen in den alkalischen Bereich steigen und somit zu falsch positiven Reaktionen führen.^{14,15}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Rapid Urea Broth getestet, um die spezifischen Produkteigenschaften zu überprüfen. Proben werden direkt mit einer frischen Kultur von *Helicobacter pylori* (ATCC 43504) und *Escherichia coli* (ATCC 25922) auf **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood inokuliert. Die Fläschchen werden mit gelockerten Verschlusskappen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 – 37 °C inkubiert. Eine positive Reaktion (Farbumschlag von gelb-orange bis rosenrot) ist bei *H. pylori* zu beobachten. *E. coli* bleibt nach 24 h negativ (ohne Farbumschlag).

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
298330	BD BBL Rapid Urea Broth, Packung zu 10 Fläschchen

XIV LITERATUR

1. Warren, J.R., and B. Marshall. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* *i*:1273-1275.
2. Rauws, E.A.J., W. Langenberg, H.J. Houthoff, H.C. Zanen, and G.N.J. Tytgat. 1988. *Campylobacter pyloridis*-associated chronic active antral gastritis. *Gastroenterology* *94*:33-40.
3. Marshall, B.J., J.A. Armstrong, D.B. McGeachie, and R.J. Glancy. 1985. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric campylobacter. *Med. J. Aust.* *142*:436-439.
4. Buck, G.E., W.K. Gourley, W.K. Lee, K. Subramanyam, J.M. Latimer, and A.R. DiNuzzo. 1986. Relation of *Campylobacter pyloridis* to gastritis and peptic ulcer. *J. Infect. Dis.* *153*:664-669.
5. Czinn, S.J., and H. Carr. 1987. Rapid diagnosis of *Campylobacter pyloridis*-associated gastritis. *J. Pediatr.* *110*:569-570.
6. McNulty, C.A.M., and R. Wise. 1985. Rapid diagnosis of *Campylobacter*-associated gastritis. *Lancet* *i*:1443-1444.
7. Bates, H.M. 1987. *C. pylori*-induced gastritis and peptic ulcers. *Lab. Management* *25*(11):27-31.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
9. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* *17*:53-80.
10. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
11. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
12. Coudron, P.E., and D.F. Kirby. 1989. Comparison of rapid urease tests, staining techniques, and growth on different solid media for detection of *Campylobacter pylori*. *J. Clin. Microbiol.* *27*:1527-1530.
13. Nachamkin, I. 1995. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 483-491. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
15. Westblom, T.U., E. Madan, J. Kemp, and M. Subik. 1988. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. *J. Clin. Microbiol.* *26*:1393-1394.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder 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