

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

I WPROWADZENIE

Podłoże Rapid Urea Broth służy do wstępnej identyfikacji *Helicobacter pylori* z próbek biopsyjnych jamy odźwiernikowej żołądka.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

- Wykonać posiew reprezentacyjnej próby podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - Zaszczepiać bezpośrednio ze świeżego szczepu wyhodowanego na podłożu **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood.
 - Inkubować fiołki z poluzowanymi nakrętkami przez 24 godzin w temperaturze $36 \pm 1^\circ\text{C}$, w warunkach tlenowych.
- Zbadać fiołki po upływie 1, 4 i 24 h pod względem zmiany koloru pożywki.
- Oczekiwane wyniki

Drobnoustroje	ATCC	Kolor pożywki
<i>Campylobacter coli</i>	834	Brak reakcji do delikatnie różowego po 24 h
<i>Campylobacter jejuni</i>	29428	Brak reakcji po 24 h (blado żółto-pomarańczowy)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Brak reakcji po 24 h (blado żółto-pomarańczowy)
* <i>Helicobacter pylori</i>	43504	Średnio-czerwony po różowoczerwony w ciągu 4 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33495	Brak reakcji w ciągu 4h, delikatnie różowy do średnio-czerwonego po 24 h
<i>Proteus vulgaris</i>	8427	Różowoczerwony po 24h

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

- Sprawdzić fiołki zgodnie z punktem „Pogorszenie jakości produktu”.
- Wzrokowo ocenić reprezentatywne fiołki, aby upewnić się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne wady fizyczne.
- Określić potencjometrycznie wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $6,8 \pm 0,2$.
- Inkubować niezaszczepione, reprezentatywne fiołki w temperaturze $33 - 37^\circ\text{C}$ oraz $20 - 25^\circ\text{C}$ przez 72 godziny, po czym zbadać je pod kątem skażenia mikrobiologicznego.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Podłoże Rapid Urea Broth służy do wstępnej identyfikacji *Helicobacter pylori* z próbek biopsyjnych jamy odźwiernikowej żołądka.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Obecność małych, zakrzywionych pałeczek w kształcie litery S w próbkach biopsyjnych jamy odźwiernikowej żołądka po raz pierwszy opisali Warren i Marshall w 1983 roku.¹ Później inni badacze obserwowali wpływ drobnoustroju znanego obecnie jako *Helicobacter pylori* na powstawanie stanu zapalnego żołądka.²⁻⁴ Wyizolowanie i zidentyfikowanie drobnoustroju na pierwszym podłożu może jednak trwać do 7 dni, co opóźnia leczenie.⁵

McNulty opracował szybki test diagnostyczny stosowany w zapaleniu żołądka związanym z zakażeniem *Helicobacter*. Zaobserwował, że *H. pylori* charakteryzuje się szybką hydrolizą mocznika. Dlatego w 2-procentowym bulionie mocznikowym Christensena umieścił próbki biopsyjne i obserwował zmianę ich koloru. W związku z dużą liczbą drobnoustrojów znajdujących się w próbkach wyniki dodatnie były obserwowane w czasie nie krótszym niż 1 h.⁶

VI ZASADY PROCEDURY

Enzym ureaza katalizuje hydrolizę mocznika do amoniaku i jonów wodorowęglanowych. Ponieważ ureaza nie jest enzymem ludzkim, jej aktywność w błonie śluzowej żołądka zależy głównie od obecności *H. pylori*.⁷ Wytworzony enzym ureaza obecny w próbkach biopsyjnych zmienia środowisko bulionu ureazowego na zasadowe i kolor wskaźnika czerwieni fenolowej w podłożu na różowoczerwony.

VII ODCZYNNIKI

Rapid Urea Broth

Przybliżony skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Trzuskowy wyciąg żelatynowy.....	1,0	g
Dekstroza.....	1,0	g
Chlorek sodu.....	5,0	g
Fosforan potasu.....	2,0	g
Mocznik.....	20,0	g
Czerwień fenolowa.....	0,012	g

*Skorygowany i/lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami, których celem jest spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Fiolki z ciasno dopasowanymi zatyczkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła. W próbkach klinicznych mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i HIV. Podczas pracy z wszelkimi materiałami zanieczyszczonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy stosować „Standardowe środki ostrożności”⁸⁻¹¹ oraz przestrzegać wytycznych obowiązujących w danym laboratorium. Pojemniki z próbkami oraz inne skażone materiały należy przed wyrzuceniem wyjałowić w autoklawie.

Przechowywanie: Otrzymane fiolki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2 – 8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. Fiolki przechowywane do momentu użycia zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie można stosować do wykonywania posiewów do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu: Nie należy używać fiolek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wytrącenia osadu, parowania lub inne objawy wskazujące na pogorszenie jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Próbki biopsyjne pochodzące z jamy odźwiernikowej żołądka można umieszczać bezpośrednio na podłożu Rapid Urea Broth, w soli fizjologicznej lub innym odpowiednim materiale^{12,13}. Probki należy uzyskać przed zastosowaniem środków przeciwbakteryjnych. Probki powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Rapid Urea Broth

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze podłoża hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodne z wymaganiami.

Procedura testowa: Po pobraniu próbek biopsyjnych jamy odźwiernikowej żołądka należy je natychmiast umieścić na podłożu Rapid Urea Broth. Jeżeli próbki są transportowane do laboratorium w soli fizjologicznej, należy je natychmiast przenieść na podłoże Rapid Urea Broth. Umieścić fiolki w inkubatorze w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ i obserwować pojawienie się czerwonego koloru w ciągu 1 h. W razie ujemnej reakcji kontynuować inkubację i obserwować co 4 h.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy spełniać wymagania kontroli jakości zgodnie z odpowiednimi przepisami prawa lokalnego, stanowego i/lub federalnego, z wymaganiami akredytacji i standardowymi procedurami kontroli jakości danego laboratorium. Zaleca się skorzystanie z odpowiednich wytycznych CLSI lub przepisów CLIA w celu ustalenia właściwych zasad kontroli jakości.

X WYNIKI

Obecność ureazy jest sygnalizowana przez różowoczerwony całego bulionu. W przypadku reakcji ujemnej nie następuje zmiana koloru, np. podłoże bulionu pozostaje żółtawopomarańczowe. Wyniki należy potwierdzić poprzez zastosowanie metody barwienia Gramma i wykonanie hodowli pochodnych na odpowiednich podłożach, np. Skirrows Medium^{7,12,13}.

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Podłoże do testu mocznikowego wskazuje alkaliczność pożywki i z tego względu nie jest specyficzne w wykrywaniu ureazy. Wykorzystanie peptonów przez drobnoustroje zanieczyszczające lub innych białek w podłożu może podnosić pH do zasadowego ze względu na hydrolizę białek oraz uwalnianie nadmiaru resztek aminokwasów. Spowoduje to podanie fałszywych dodatnich wyników reakcji^{14,15}.

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Wszystkie partie podłoża Rapid Urea Broth są przed przekazaniem do sprzedaży testowane pod kątem określonych właściwości produktu. Na próbkach jest bezpośrednio dokonywany posiew świeżymi hodowlami *Helicobacter pylori* ATCC 43504 i *Escherichia coli* ATCC 25922 wzrastającymi na podłożu **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood. Fiolki są inkubowane z dokręconymi nakrętkami w temperaturze od 35 do 37°C w atmosferze tlenowej. *H. pylori* wykazuje reakcję dodatnią (zmiana koloru z żółtopomarańczowego na różowoczerwony). *E. coli* natomiast daje reakcję ujemną (brak zmiany koloru) po 24 h.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
298330	BD BBL Rapid Urea Broth, opakowanie 10 fiolek

XIV PIŚMIENICTWO

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.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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