



BBL Urea Agar Base Concentrate 10X BBL Urea Agar Slants, Complete



L007521 • Rev. 11 • September 2015

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE (Optional)

I EINFÜHRUNG

Harnstoff-Agar ist ein Differenzierungsmedium für *Enterobacteriaceae*, und stützt sich auf deren Fähigkeit zur Ureaseproduktion.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

A. Anleitung zur Herstellung eines kompletten Mediums aus Urea Agar Base Concentrate 10X (Harnstoff-Agar-Base, 10fach konzentriert):

1. Zur Herstellung des Harnstoff-Agar-Mediums 1,7 g granulierten Agar in 100 mL destilliertes Wasser geben. Unter Rütteln erhitzen und 1 Min lang kochen.
2. Aliquote von 9 mL in Röhrchen geben und im Autoklaven 15 Min lang bei 121 °C sterilisieren.
3. Den Agar auf 45 bis 50 °C abkühlen und ein Röhrchen Konzentrat Raumtemperatur erreichen lassen. In jedes der Röhrchen mit 9 mL abgekühlter Agar-Lösung 1 mL Konzentrat geben und gut durchmischen.
4. Die Röhrchen in Schräglage abkühlen lassen, sodass sich Schrägen mit tiefen Enden bilden.

B. Testen eines kompletten Mediums (Harnstoff-Schrägagar)

1. Repräsentative Proben mit den im Folgenden aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a) Mit einer geeichten 0,01 mL-Impföse die Schrägen gründlich inokulieren, und zwar unter Verwendung 24 bis 48 Std. alter Kulturen auf **Trypticase-Soja-Schrägagar**. Das Ende nicht inokulieren.
 - b) Die Röhrchen mit gelockerten Kappen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
2. Die Röhrchen nach 2, 4, 6 und 24 Std. im Hinblick auf Wachstum und Reaktionen überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

Kontrollorganismen (ATCC-Stämme)	Urease-Reaktion
* <i>Proteus vulgaris</i>	+ (intensive rosarote bis rotviolette Farbe)
ATCC 8427	
<i>Morganella morganii</i> Subsp. <i>morganii</i>	+ (intensive rosarote bis rotviolette Farbe)
ATCC 8019	
* <i>Salmonella enterica</i> Subsp. <i>enterica</i>	– (kein Farbumschlag)
serotyp Typhimurium	
ATCC 13311	
• Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für die Qualitätskontrolle durch den Anwender.	
HINWEIS: Dieses Medium ist gemäß CLSI M22-A3 von Qualitätskontrolltests durch den Anwender ausgenommen.	

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Die Röhrchen untersuchen, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen visuell überprüfen, um sicherzustellen, dass ihre Nutzung nicht durch bereits vorhandene Beschädigungen beeinträchtigt werden kann.
3. Den pH-Wert mit einem Potentiometer bei Raumtemperatur überprüfen, um festzustellen, ob die Spezifikation von $6,8 \pm 0,2$ eingehalten wird.
4. Nicht inokulierte repräsentative Röhrchen bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen untersuchen.

PRODUKTFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Harnstoff-Agar dient zur Differenzierung von Mikroorganismen, insbesondere von *Enterobacteriaceae*, und stützt sich auf deren Fähigkeit zur Ureaseproduktion.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Harnstoff-Agar wurde von Christensen als festes Medium für die Differenzierung enterischer Bazillen entwickelt.¹ Er ermöglicht die Differenzierung zwischen schnell urease-positiven *Proteae*-Mikroorganismen (*Proteus* spp., *Morganella morganii* Subsp. *morganii*, *Providencia rettgeri* und einigen *Providencia stuartii*-Spezies) und anderen urease-positiven Mikroorganismen (*Citrobacter*, *Enterobacter* und *Klebsiella* und Bakterien, bei denen es sich nicht um *Enterobacteriaceae* handelt, d.h. einige *Bordetella*- und *Brucella*-Spezies).²

Das Basismedium ist auch in Röhrchen als filtersterilisierte zehnfach konzentrierte Lösung (10X) für die Herstellung von Harnstoff-Schrägagar im Anwenderlabor erhältlich.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das Harnstoffmedium von Rustigian und Stuart³ eignet sich besonders zur Differenzierung von *Proteus*-Spezies von anderen gramnegativen Enterobazillen, die Harnstoff aufnehmen können;¹ letztere können dies jedoch nicht in Harnstoff-Testbouillon bewerkstelligen, weil Nährstoffe nur in begrenztem Umfang vorhanden sind und das Medium eine hohe Pufferkapazität aufweist. Auf der Suche nach einem breiter nutzbaren Medium entwickelte Christensen¹ Harnstoff-Agar mit Pepton- und Dextrose-Anteil sowie reduziertem Puffergehalt, um das schnellere Wachstum zahlreicher *Enterobacteriaceae* zu fördern und die Inkubationszeiten zu verkürzen.

Wenn Mikroorganismen Harnstoff verbrauchen, entsteht im Verlauf der Inkubation Ammoniak, wodurch die Reaktion dieser Medien alkalisch wird und sich eine rosarote Färbung ergibt. Infolgedessen lässt sich die Ureaseproduktion durch den Umschlag des Phenolrot-Indikators nachweisen.

VII REAGENZIEN

BBL Urea Agar Base Concentrate 10X

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem Wasser		
Pankreatisch abgebaute* Gelatine	10,0	g
Dextrose	10,0	g
Natriumchlorid	50,0	g
Kaliumphosphat	20,0	g
Harnstoff	200,0	g
Phenolrot	0,12	g

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

BBL Urea Agar Slants, Complete

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem 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
Agar	15,0	g

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

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

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Nach Gebrauch präparierte Röhrchen, Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

221100 **BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X**, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K

Achtung



H315 Verursacht Hautreizungen. **H319** Verursacht schwere Augenreizung.

P103 Vor Gebrauch Kennzeichnungsetikett lesen. **P264** Nach Gebrauch gründlich waschen.

P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. **P305+P351+P338** BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

Aufbewahrung

Die Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. In den Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Medien können bis zum Verfallsdatum inokuliert und für die empfohlene Zeitdauer inkubiert werden. Vor Lichteinwirkung schützen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen mit Anzeichen von Kontamination durch Mikroorganismen, Verfärbung, Eintrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen der einschlägigen Fachliteratur entnehmen.^{4,5} Die Proben sollten vor der Anwendung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Urea Agar Base Concentrate 10X oder

Urea Agar Slants, Complete

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptisch vorgehen.

Bei Verwendung von Urea Agar Base Concentrate 10X (Harnstoff-Agar-Base, 10fach konzentriert) das komplette Medium zubereiten, wie im Abschnitt zur Qualitätskontrolle beschrieben. Kristalle, die sich unter Umständen im Konzentrat bilden können, lösen sich gewöhnlich bei Raumtemperatur wieder auf oder nach einigen Minuten im Wasserbad bei 40 °C.

Ein starkes Inokulat von Wachstum einer 18 bis 24 Std. alten Reinkultur (TSI-Agar oder sonstiges geeignetes Medium) auf der gesamten Oberfläche der Schräge ausstreichen (vor und zurück). Nicht in das Ende einstechen, da dieses als Farbkontrolle dient. Die Röhrchen mit gelockerten Verschlüssen bei 35 ± 2 °C im Inkubator oder Wasserbad inkubieren. Im Verlauf von insgesamt 6 Tagen die Reaktionen nach 2, 4, 6 und 24 Std. kontrollieren und anschließend täglich. Es können sogar noch längere Inkubationszeiträume erforderlich sein.

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Jede Mediencharge wurde gemäß entsprechenden Qualitätskontrollorganismen getestet und dieser Test erfüllt die Produktspezifikationen und die zutreffenden CLSI-Standards. Wie immer sollten Qualitätskontrolltests unter Einhaltung der kommunal, landesweit und/oder bundesweit geltenden Vorschriften, der Zulassungsbestimmungen und/oder der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen.

X ERGEBNISSE

Die Ureaseproduktion ist ersichtlich aus einer intensiven rosaroten (rotvioletten) Farbe der Schräge. Die Farbe kann in den Agar (Ende) eindringen; das Ausmaß der Färbung weist die Geschwindigkeit der Harnstoffhydrolyse aus.⁶

Eine negative Reaktion bewirkt keinen Farbumschlag; das Agar-Medium bleibt hellgelb bis lederfarben.

Listen urease-positiver Mikroorganismen enthält die einschlägige Fachliteratur.^{5,7,8}

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Diese Harnstoff-Testmedien stützen sich auf den Nachweis der Alkalinität. Sie sind daher nicht spezifisch für Urease. Beim Verbrauch von Peptonen, besonders in Schrägagar, (z. B. durch *Pseudomonas aeruginosa*) oder anderen im Medium befindlichen Proteinen kann der pH-Wert durch Proteinhydrolyse und Freisetzung übermäßiger Aminosäurereste in den alkalischen Bereich steigen, was eine falsch positive Reaktionen ergibt.²
2. Auf Harnstoff-Agar führen urease-positive *Proteeae* bald nach der Inokulation zur Alkalinität des Mediums. Damit die Ergebnisse für den *Proteeae*-Nachweis Gültigkeit besitzen, müssen sie innerhalb der ersten 6 Inkubationsstunden abgelesen werden. *Citrobacter freundii* und *Klebsiella pneumoniae* Subsp. *pneumoniae* können innerhalb von 24 bis 48 Std. eine positive Reaktion bewirken.²
3. Zum Nachweis müssen die Mikroorganismen in Reinkultur vorhanden sein. Für die endgültige Identifizierung sind morphologische, biochemische und/oder serologische Tests erforderlich. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{4,5,7}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Kantor et al. entwickelten ein schnelles und vereinfachtes Schema, für das mindestens drei Tests und maximal sieben Tests herangezogen wurden, mit dem Labors routinemäßig gramnegative Non-Fermenter identifizieren konnten. Mit diesem Schema wurden insgesamt 229 unbekannte gramnegative Non-Fermenter und 14 Referenzstämme identifiziert. Harnstoff-Agar wurde zur Differenzierung von *Alcaligenes* sp. und *Pseudomonas alcaligenes* von *Bordetella bronchiseptica* herangezogen.⁹

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
221100	BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K
221096	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, Packung zu 10 Röhrchen der Größe K
221097	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, Karton zu 100 Röhrchen der Größe K

XIV LITERATUR

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. Rustigian, 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. Pfaller and R.H. Tenover (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. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (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.

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