



BBL Urease Broth Concentrate 10X



BBL Urease Test Broth, 3 mL

L007522 • Rev. 09 • September 2014

MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Harnstoff-Testbouillon ist ein Differenzierungsnährboden für Mikroorganismen, insbesondere für *Enterobacteriaceae*, und basiert auf deren Fähigkeit, Urease zu produzieren.

II LEISTUNGSTESTVERFAHREN

A. Anleitung zur Herstellung eines fertigen Nährbodens aus Harnstoff-Testbouillon-Konzentrat 10X:

1. Für die Zubereitung des Nährbodens unter aseptischen Bedingungen 1 mL des Konzentrats zu 9 mL kaltem, sterilem destilliertem Wasser hinzugeben. Gut durchmischen.
2. Unter aseptischen Bedingungen in Mengen zu 3 mL in kleine sterile Röhrchen geben.

B. Test des fertigen Nährbodens (Harnstoff-Testbouillon):

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Mit einer für 0,01 mL kalibrierten Impfüse die Bouillon gründlich (3 Impfüsen voll) inokulieren, und zwar unter Verwendung von 24 bis 48 Stunden alten Kulturen auf **Trypticase-Sojaschrägar**.
 - b. Röhrchen mit gelösten Verschlüssen in einer aeroben Atmosphäre bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubieren (im Inkubator oder im Wasserbad).
2. Röhrchen nach 2, 4, 6 und 24 Stunden auf Wachstum und Reaktionen überprüfen.
3. Erwartetes Ergebnis

Ureasereaktion

* <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	+ (intensive rosarote bis rotviolette Farbe)
<i>Morganella morganii</i> Subspezies. <i>morganii</i> ATCC 8019	+ (intensive rosarote bis rotviolette Farbe)
* <i>Salmonella enterica</i> Subspezies. <i>enterica</i> Serotyp Typhimurium ATCC 13311	– (Keine Farbänderung)

* Empfohlener Stamm des Mikroorganismus für Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen genau betrachten, wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben.
2. Repräsentative Röhrchen visuell überprüfen, um sicherzustellen, daß deren Nutzung nicht durch Beschädigung beeinträchtigt wird.
3. pH-Wert mit dem Potentiometer bei Raumtemperatur überprüfen, ob ein Bereich von $6,8 \pm 0,2$ eingehalten wird.
4. Repräsentative, nicht inokulierte Röhrchen bei $20 - 25^\circ\text{C}$ und bei $30 - 35^\circ\text{C}$ inkubieren und nach 7 Tagen auf Kontamination durch Mikroorganismen überprüfen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Harnstoff-Testbouillon wird verwendet zur Differenzierung von Mikroorganismen, insbesondere *Enterobacteriaceae*, auf der Grundlage ihrer Ureaseproduktion.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Harnstoff-Testbouillon wurde von Rustigian und Stuart entwickelt.¹ Das Produkt kann zur Identifizierung von Bakterien auf der Grundlage ihrer Harnstoffmetabolisierung verwendet werden. Es wird besonders zur Differenzierung zwischen den verschiedenen Mitgliedern des Genus *Proteus* von den Mitgliedern der Genera *Salmonella* und *Shigella* zur Diagnose von Darminfektionen empfohlen.² Der Nährstoff ist positiv für *Proteus*, *Morganella-morganii*-Subspezies *morganii*, *Providencia rettgeri* und einige *Providencia-stuartii*-Stämme mit Reklassifizierung der Mitglieder des Stammes *Proteeae*.

Urease-Basis wird auch als filtersterilisiertes Zehnfachkonzentrat (10X) zur Verwendung bei der Herstellung von Harnstoff-Testbouillon geliefert.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Das Harnstoffmedium von Rustigian und Stuart¹ ist besonders geeignet zur Differenzierung von *Proteus*-Spezies und anderen gramnegativen Enterobazillen, die Harnstoff aufnehmen können,³ da die letzteren dies in Harnstoff-Testbouillon nicht bewerkstelligen können, weil nur in begrenztem Umfang Nährstoffe vorhanden sind und der Nährboden eine hohe Pufferkapazität aufweist.

Wenn Mikroorganismen Harnstoff metabolisieren, bildet sich bei der Inkubation Ammoniak, wodurch die Gesamtreaktion dieser Nährböden alkalisch wird und eine rosarote Färbung entsteht. Infolgedessen läßt sich die Ureaseproduktion durch einen Umschlag des Phenolrot-Indikators nachweisen.

VII REAGENZIEN

Harnstoff-Testbouillon-Konzentrat 10X

Ungefähre Zusammensetzung* je 1 L destilliertes Wasser

Harnstoff	200,0 g
Kaliumdihydrogenphosphat	91,0 g
Dinatriumphosphat.....	95,0 g
Hefeextrakt	1,0 g
Phenolrot.....	0,1 g

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

Harnstoff-Testbouillon

Ungefähre Zusammensetzung* je 1 L destilliertes Wasser

Harnstoff	20,0 g
Kaliumdihydrogenphosphat	9,1 g
Dinatriumphosphat.....	9,5 g
Hefeextrakt	0,1 g
Phenolrot.....	0,01 g

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

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Fest verschlossene Röhrchen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Verwendung aseptischer Techniken erfolgen. Präparierte Röhrchen, Probenbehälter und sonstige kontaminierte Materialien nach Verwendung im Autoklaven sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung:

Nach Erhalt Röhrchen im Dunkeln bei 2 – 8 °C lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Verpackung der Säckchen erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. In Röhrchen gemäß Kennzeichnung aufbewahrte Nährbögen können bis zum Verfallsdatum inokuliert und über die empfohlene Zeit inkubiert werden. Vor Lichteinwirkung schützen.

Haltbarkeit des Produkts:

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

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Kultivierbare Proben können auf unterschiedliche Weise gehandhabt werden. Detaillierte Informationen enthält die entsprechende Fachliteratur.^{2,4} Die Proben sollten vor Gabe von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

Urease Test Broth oder Urease Broth Concentrate, 10X

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte, die für dieses Verfahren gebraucht werden.

Testverfahren:

Aseptische Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Wenn Harnstoff-Testbouillon-Konzentrat 10X verwendet wird, fertigen Nährboden wie im Abschnitt „Qualitätskontrolle“ beschrieben zubereiten. 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.

Bouillon mit einem starken Inokulat (3 Impfösen voll) von Bakterien auf einer 18 bis 24 Stunden alten Reinkultur (TSI-Agar oder einem sonstigen geeigneten Nährboden) inokulieren. Zum Suspendieren der Bakterien Röhrchen vorsichtig schütteln. Röhrchen mit gelösten Verschlüssen bei 35 ± 2 °C inkubieren (im Inkubator oder im Wasserbad). Reaktionen nach 2, 4, 6, 24 und 48 Stunden überprüfen.

Qualitätssicherung durch den Anwender

Qualitätssicherung durch den Anwender siehe oben unter „Maßnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Benutzer sollten die relevanten CLSI-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.

X ERGEBNISSE

Die Ureaseproduktion ist zu erkennen an einer intensiven rosaroten (rotvioletten) Farbe der gesamten Bouillon.

Das Fehlen einer Farbänderung bedeutet eine negative Reaktion: die Bouillon bleibt gelblichrot.

Liste ureasepositiver Mikroorganismen enthält die einschlägige Fachliteratur.^{2,5,6}

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Alle Harnstoff-Testmedien gründen sich auf den Nachweis einer alkalischen Reaktion. Aus diesem Grund sind sie auch nicht spezifisch für Urease. Bei Metabolisierung von Peptonen (z. B. durch *Pseudomonas aeruginosa*) oder anderen Proteinen im Nährboden kann der pH durch Proteinhydrolyse und durch Freisetzung von überschüssigen Aminosäuren in den alkalischen Bereich steigen und somit zu falsch positiven Ergebnissen führen.⁷

Zur Identifizierung muß der Mikroorganismus in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung müssen morphologische, serologische und biochemische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{2,4-6}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Harnstoff-Testbouillon auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Mit einer für 0,01 mL kalibrierten Impföse werden repräsentative Proben der Charge gründlich (3 Impfösen voll) inokuliert, und zwar mit Kulturen von *Morganella morganii* (ATCC 8019), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427), und *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311) auf **Trypticase-Sojaagar**. Inokulierte Röhrchen mit gelösten Verschlüssen bei 35 ± 2 °C inkubieren und nach 2, 4, 6, 24 und 48 Stunden Reaktionen ablesen. *M. morganii* und *P. vulgaris* ergeben innerhalb von 4 Stunden eine rosarote Farbe des Nährbodens, was auf die Ammoniakkbildung durch Metabolisierung von Harnstoff hinweist, der den Nährboden alkalisch werden läßt. Bei *Salmonella* Typhimurium fällt der Test der Ureaseproduktion negativ aus, und es kommt zu keiner Farbänderung des Mediums.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr	Beschreibung
221719	BD BBL Urease Test Broth, 3mL, Packung zu 10 Röhrchen Größe K.
221098	BD BBL Urease Broth Concentrate, 10X, Packung zu 10 Röhrchen Größe K.

XIV REFERENCES

1. Rustigian, R., and C.A. Stuart. 1941. Decomposition of urea by *Proteus*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 47:108-112.
2. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
3. 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.
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. 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.
6. 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.
7. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore.

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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.