



BBL Urease Broth Concentrate 10X



BBL Urease Test Broth, 3 mL

L007522 • Rev. 09 • Septembre 2014

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le bouillon de test uréase est un milieu de croissance différentiel qui distingue les microorganismes, notamment les *Enterobacteriaceae*, selon leur capacité à produire de l'uréase.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

A. Consignes de préparation d'un milieu complet à partir d'un bouillon de test uréase concentré 10X

1. Pour préparer le milieu, ajouter en conditions aseptiques 1 mL de concentré à 9 mL d'eau purifiée stérile froide. Bien mélanger.
2. Distribuer en conditions aseptiques 3 mL de la solution dans de petits tubes à essai stériles.

B. Test du milieu complet (bouillon de test uréase)

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. A l'aide d'un ensemenceur à anse calibrée de 0,01 mL, ensemencer le bouillon avec un inoculum important (3 anses) prélevé sur des cultures en gélose de soja inclinée **Trypticase** âgées de 24 à 48 heures.
 - b. Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C (incubateur ou bain-marie) en atmosphère aérobie.
2. Examiner les tubes après 2, 4, 6 et 24 h pour déceler une éventuelle croissance ou des signes de réaction.
3. Résultats attendus

Réaction uréase

* <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	+ (coloration intense rose-rouge à rouge-violet)
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i> ATCC 8019	+ (coloration intense rose-rouge à rouge-violet)
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> sérotypage Typhimurium ATCC 13311	– (pas de changement de couleur)

*Souche de microorganisme recommandée pour le contrôle de qualité par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. S'assurer que la pH mesuré par potentiométrie à température ambiante est conforme à la spécification ($6,8 \pm 0,2$).
4. Incuber des tubes représentatifs non inoculés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

Le bouillon de test uréase s'utilise pour différencier les microorganismes, notamment les *Enterobacteriaceae*, selon leur capacité à produire de l'uréase.

V RESUME ET EXPLICATION

Le bouillon de test uréase a été mis au point par Rustigian et Stuart.¹ Il peut servir à l'identification des bactéries sur la base de leur métabolisation de l'urée et il est particulièrement recommandé pour différencier les microorganismes du genre *Proteus* de ceux des genres *Salmonella* et *Shigella* pour le diagnostic des infections entériques.² Le milieu est positif pour *Proteus*, *Morganella morganii* subsp. *morganii*, *Providencia rettgeri* et quelques souches du genre *Providencia stuartii* avec la reclassification des microorganismes du genre *Proteaeae*.

La base uréase est également fournie sous la forme d'une solution concentrée 10X, stérilisée par filtration, qui sert à préparer le bouillon de test uréase dans le laboratoire de l'utilisateur.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le milieu à l'urée de Rustigian et Stuart¹ est particulièrement adapté pour différencier les espèces du genre *Proteus* des autres bacilles entériques à Gram négatif capables de métaboliser l'urée,³ ces derniers en étant incapables dans le bouillon de test uréase en raison de la faible quantité de nutriments présents et de la capacité tampon élevée du milieu.

Lorsque les microorganismes métabolisent l'urée, de l'ammoniac se forme pendant l'incubation, ce qui alcalinise le milieu en produisant une couleur rose-rouge. Par conséquent, la production d'uréase peut être détectée par le changement de couleur de l'indicateur rouge de phénol.

VII REACTIFS

Bouillon de test uréase concentré 10X

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Urée	200,0 g
Phosphate monopotassique	91,0 g
Phosphate disodique	95,0 g
Extrait de levure	1,0 g
Rouge de phénol	0,1 g

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Bouillon de test uréase concentré 10X

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Urée	20,0 g
Phosphate monopotassique	9,1 g
Phosphate disodique	9,5 g
Extrait de levure	0,1 g
Rouge de phénol	0,01 g

*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après utilisation, les tubes préparés, les récipients contenant les échantillons et les autres matériels contaminés doivent être stérilisés à l'autoclave avant d'être éliminés.

Instructions pour la conservation

Dès réception, conserver les tubes entre 2 à 8 °C dans l'obscurité. Ne pas congeler ni surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Les tubes de milieu conservés comme indiqué sur l'étiquette peuvent être inoculés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées. Maintenir à l'abri de la lumière.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les tubes s'ils montrent des signes de contamination microbienne, décoloration, dessèchement ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la culture peuvent être manipulés en utilisant différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications correspondantes.^{2,4} Prélever les échantillons avant l'administration d'agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis

Urease Test Broth ou Urease Broth Concentrate, 10X

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, microorganismes de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis pour cette méthode.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Si le bouillon de test uréase concentré 10X est utilisé, préparer le milieu complet comme décrit à la section « Contrôle de qualité ». Si des cristaux se forment dans le concentré, ils se dissolvent habituellement à température ambiante ou en quelques minutes au bain-marie à 40 °C.

Ensemencer le bouillon avec un inoculum important (3 anses) prélevé sur une culture pure âgée de 18 à 24 h (gélose TSI ou autre milieu adapté). Secouer doucement les tubes pour mettre en suspension les bactéries. Incuber les tubes, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C dans un incubateur ou un bain-marie. Examiner les tubes après 2, 4, 6, 24 et 48 h pour déceler d'éventuelles réactions.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir la section « Procédures de contrôle de qualité » ci-dessus pour plus d'informations sur le contrôle de qualité par l'utilisateur.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

La production d'uréase est indiquée par une coloration rose-rouge (rouge-violet) dans tout le milieu.

Une réaction négative est indiquée par une absence de changement de couleur : le bouillon demeure jaune orangé.

Pour connaître la liste des microorganismes à uréase positive, consulter les publications appropriées.^{2,5,6}

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Tous les milieux de test à base d'urée reposent sur l'alcalinisation du milieu ; par conséquent, ils ne sont pas spécifiques de l'uréase. L'utilisation de peptones (p. ex., par *Pseudomonas aeruginosa*) ou d'autres protéines présentes dans le milieu risque d'élever le pH jusqu'à l'alcalinité en raison de l'hydrolyse des protéines et de la libération de résidus aminoacides en excès, ce qui entraînera de faux positifs.⁷

Pour procéder à l'identification, les microorganismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Consulter les documents appropriés pour obtenir plus d'informations et connaître les méthodes recommandées.^{2,4,6}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Avant leur mise sur le marché, tous les lots de bouillon de test uréase sont testés afin d'établir leurs caractéristiques de performances. A l'aide d'un ensemenceur à anse calibré de 0,01 mL, des échantillons représentatifs du lot sont ensemencés avec trois anses d'inoculum prélevé sur des cultures en gélose de soja **Trypticase** de *Morganella morganii* (ATCC 8019), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427) et *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311). Les tubes ensemencés sont incubés, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C et examinés à 2, 4, 6, 24 et 48 h pour déceler d'éventuelles réactions. *M. morganii* et *P. vulgaris* produisent une coloration rose-rouge dans le milieu dans les quatre heures qui suivent, ce qui indique la formation d'ammoniac, produit par la métabolisation de l'urée et responsable de l'alcalinisation du milieu. *Salmonella* Typhimurium est négatif pour la production d'uréase et le milieu ne présente aucun changement de couleur.

XIII CONDITIONNEMENT**N° réf. Description**

221719 **BD BBL Urease Test Broth**, 3mL, coffret de 10 tubes de taille K.

221098 **BD BBL Urease Broth Concentrate**, 10X, coffret de 10 tubes de taille 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.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site 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.