



BBL Urease Broth Concentrate 10X



BBL Urease Test Broth, 3 mL

L007522 • Rev. 09 • Settembre 2014

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Urease Test Broth è un terreno usato per differenziare i microrganismi, soprattutto membri di *Enterobacteriaceae* spp., in base alla loro capacità di produrre ureasi.

II PROCEDURA DEL TEST

A. Istruzioni per la preparazione di un terreno completo con Urease Broth Concentrate 10X

1. Per preparare il terreno, dispensare asetticamente 1 mL di concentrato in 9 mL di acqua purificata sterile fredda. Mescolare accuratamente.

2. Dispensare asetticamente in provette sterili piccole, in aliquote di 3 mL.

B. Test del terreno completo (Urease Test Broth)

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.

a. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, inoculare il brodo con inoculi di rilevante entità (3 anse complete) usando colture slant di 24 – 48 h di **Trypticase Soy Agar**.

b. Incubare le provette - con i tappi non completamente avvitati - a 35 ± 2 °C (incubatore o bagnomaria) in aerobiosi.

2. Esaminare le provette dopo 2, 4, 6 e 24 h per verificare la crescita e le reazioni.

3. Risultati attesi

Reazione ureasi

**Proteus vulgaris* + (da rosa-rosso intenso a rosso-violetto)
ATCC 8427

Morganella morganii + (da rosa-rosso intenso a rosso-violetto)
ssp. morganii
ATCC 8019

**Salmonella enterica* – (Nessuna variazione cromatica)
ssp. enterica
sierotipo Typhimurium
ATCC 13311

*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".

2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.

3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di $6,8 \pm 0,2$.

4. Incubare a $20 - 25$ °C e a $30 - 35$ °C le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Urease Test Broth è usato per la differenziazione di microrganismi, soprattutto *Enterobacteriaceae* spp., in base alla produzione di ureasi.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Urease Test Broth, sviluppato da Rustigian e Stuart¹, può essere usato per l'identificazione di batteri in base all'utilizzo dell'urea ed è particolarmente raccomandato per differenziare i membri del genere *Proteus* da quelli di *Salmonella* e *Shigella* nella diagnosi di infezioni enteriche.² Il terreno è positivo per *Proteus*, *Morganella morganii ssp. morganii*, *Providencia rettgeri* e alcuni ceppi *Providencia stuartii* con la riclassificazione dei membri delle Proteeae.

La base ureasi è fornita anche come soluzione concentrata 10X sterilizzata mediante filtrazione, da usare nella preparazione di Urease Test Broth nel laboratorio dell'utente.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il terreno urea di Rustigian e Stuart¹ è particolarmente adatto alla differenziazione della specie *Proteus* da altri bacilli enterici gram-negativi in grado di utilizzare l'urea,³ poiché questi ultimi sono privi di tale proprietà in Urease Test Broth a causa delle sostanze nutritive limitate e dell'alta capacità tamponante del terreno.

L'utilizzo dell'urea da parte dei microrganismi determina la formazione di ammoniaca durante l'incubazione, con conseguente reazione alcalina di questi terreni e successivo sviluppo di una colorazione rosa-rossa. La produzione di ureasi può pertanto essere rilevata dalla variazione cromatica nell'indicatore rosso fenolo.

VII REAGENTI

Urease Broth Concentrate 10X

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Urea	200,0 g
Fosfato monopotassico.....	91,0 g
Fosfato disodico	95,0 g
Estratto di lievito	1,0 g
Rosso fenolo.....	0,1 g

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

Urease Test Broth

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Urea	20,0 g
Fosfato monopotassico.....	9,1 g
Fosfato disodico	9,5 g
Estratto di lievito	0,1 g
Rosso fenolo.....	0,01 g

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche aseptiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

Modalità di conservazione -

Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 - 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati sino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce.

Deterioramento del prodotto -

Non usare le provette se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con vari tecniche. Per informazioni dettagliate, consultare la documentazione appropriata.^{2,4} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito -

Urease Test Broth o Urease Broth Concentrate, 10X

Materiali necessari ma non forniti -

Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per questa procedura.

Procedura del test -

Adottare tecniche aseptiche.

In caso di utilizzo di Urease Broth Concentrate 10X, preparare il terreno completo come descritto nella sezione Controllo di qualità. I cristalli eventualmente formati nel concentrato, si dissolvono generalmente a temperatura ambiente oppure in pochi minuti a bagnomaria a 40 °C. Inoculare il brodo usando un inoculo di rilevante entità (3 anse complete) della crescita di una coltura pura di 18 – 24 h (TSI Agar o altro terreno adatto). Agitare delicatamente le provette per sospendere i batteri. Incubare le provette - con i tappi non completamente avvitati - a 35 ± 2 °C in incubatore o bagnomaria. Osservare le reazioni dopo 2, 4, 6, 24 e 48 h.

Controllo di qualità a cura dell'utente -

Per il controllo di qualità a cura dell'utente, vedere la sezione "Procedure di controllo di qualità".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

X RISULTATI

La produzione di ureasi è indicata dallo sviluppo di un colore rosa-rosso intenso (rosso-violetto) in tutto il brodo.

L'assenza di variazione cromatica indica una reazione negativa: il brodo rimane di colore giallognolo-arancio.

Per un elenco di microrganismi ureasi-positivi, consultare la documentazione appropriata.^{2,5,6}

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Tutti i terreni per test dell'urea si basano sulla dimostrazione di alcalinità e pertanto non sono specifici per l'ureasi. L'utilizzo di peptoni (es., da *Pseudomonas aeruginosa*) o altre proteine nel terreno può portare il pH all'alcalinità a causa dell'idrolisi proteica e del rilascio di residui aminoacidici eccessivi, con conseguente sviluppo di reazioni falsamente positive.⁷

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.^{2,4,6}

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di Urease Test Broth. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati con tre anse complete di colture in **Trypticase** Soy Agar di *Morganella morganii* (ATCC 8019), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427), e *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311). Le provette inoculate - con i tappi non completamente avvitati - vengono incubate a 35 ± 2 °C e lette dopo 2, 4, 6, 24 e 48 h per verificarne le reazioni. Entro 4 h, *M. morganii* e *P. vulgaris* sviluppano nel terreno una colorazione rosa-rosso indicante la formazione di ammoniaca dovuta all'utilizzo dell'urea e la conseguente alcalinizzazione del terreno. *Salmonella* Typhimurium è negativo per la produzione di ureasi e il terreno non evidenzia alcuna variazione cromatica.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
221719	BD BBL Urease Test Broth, 3mL, confezione da 10 provette di misura K
221098	BD BBL Urease Broth Concentrate, 10X, confezione da 10 provette di misura 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.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito 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.