



# BBL Urease Broth Concentrate 10X

## BBL Urease Test Broth, 3 mL



L007522 • Ред. 09 • Сентябрь 2014 г.

### МЕТОДИКИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

#### I ВВЕДЕНИЕ

Бульон для теста на уреазу Urease Test Broth — это дифференциальная среда для микроорганизмов, особенно вида *Enterobacteriaceae*, на основе их способности вырабатывать уреазу.

#### II МЕТОДИКА ТЕСТИРОВАНИЯ

- A. Указания по приготовлению готовой среды из концентрата уреазного бульона Urease Broth Concentrate 10X.
1. Чтобы приготовить среду, добавьте 1 мл концентрата в 9 мл холодной стерильной очищенной воды, соблюдая правила асептики. Тщательно перемешайте.
  2. Соблюдая правила асептики, перенесите порции по 3 мл в небольшие стерильные пробирки.
- Б. Тестирование готовой среды (Urease Test Broth).
1. Засейте репрезентативные образцы перечисленными далее культурами.
    - а. С помощью калиброванной петли вместимостью 0,01 мл плотно засейте бульон (3 петли), используя культуры, выдержанные в триптиказо-соевом бульоне **Trypticase** Soy Agar Slant в течение 24 – 48 ч.
    - б. Инкубируйте неплотно закрытые пробирки при температуре  $35 \pm 2$  °C (с помощью инкубатора или водяной бани) в аэробной атмосфере.
  2. Проверьте пробирки через 2, 4, 6 и 24 ч на наличие роста и реакций.
  3. Ожидаемые результаты

| Микроорганизмы                                                             | АТСС  | Реакция на уреазу                                             |
|----------------------------------------------------------------------------|-------|---------------------------------------------------------------|
| * <i>Proteus vulgaris</i>                                                  | 8427  | + (интенсивный цвет от розово-красного до красно-фиолетового) |
| <i>Morganella morganii</i> подвид <i>morganii</i>                          | 8019  | + (интенсивный цвет от розово-красного до красно-фиолетового) |
| * <i>Salmonella enterica</i><br>подвид <i>enterica</i> серотип Typhimurium | 13311 | – (отсутствие изменения окраски)                              |

\* Штамм микроорганизма, рекомендуемый для контроля качества.

#### III ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Проверьте пробирки, как описано в разделе «Разложение продукта».
2. Визуально проверьте репрезентативные пробирки, чтобы убедиться в том, что существующие физические дефекты не будут препятствовать использованию.
3. Определите уровень pH потенциометрическим способом при комнатной температуре, чтобы убедиться в соответствии характеристикам  $6,8 \pm 0,2$ .
4. Выдерживайте незапечатанные репрезентативные пробирки при температуре от 20 до 25 °C и от 30 до 35 °C и проверьте на наличие бактериального загрязнения через 7 дней.

### СВЕДЕНИЯ О ПРОДУКТЕ

#### IV НАЗНАЧЕНИЕ

Urease Test Broth (бульон для теста на уреазу) используется для дифференциации микроорганизмов, особенно членов группы *Enterobacteriaceae*, на основе их способности вырабатывать уреазу.

#### V КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Бульон для теста на уреазу Urease Test Broth был разработан Рустиджаном (Rustigian) и Стюартом (Stuart).<sup>1</sup> Его можно применять для идентификации бактерий на основе использования мочевины, кроме того, он рекомендован для дифференциации членов вида *Proteus* из *Salmonella* и *Shigella* во время постановки диагноза при кишечных инфекциях.<sup>2</sup> Среда является положительной для *Proteus*, *Morganella morganii* подвид *morganii*, *Providencia rettgeri* и нескольких штаммов *Providencia stuartii* с реклассификацией членов *Proteaceae*.

Основа уреазы также предоставляется в виде стерилизованного через фильтр концентрированного (10X) раствора для использования при подготовке бульона для теста на уреазу Urease Test Broth в лаборатории.

#### VI ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Среда с мочевиной, разработанная Рустиджаном и Стюартом<sup>1</sup>, специально предназначена для дифференциации видов *Proteus* от других грамотрицательных кишечных бацилл, способных использовать мочевины;<sup>3</sup> такие бациллы не могут использовать мочевины в бульоне для теста на уреазу Urease Test Broth из-за нехватки питательных веществ и высокой буферной емкости этой среды.

Когда микроорганизмы используют мочевины, во время инкубации образуется аммиак, что делает реакцию на эти среды щелочной, которой соответствует розово-красный цвет. Таким образом, выработку уреазы можно обнаружить по изменению индикатора фенолового красного.

## VII РЕАГЕНТЫ

### Urease Broth Concentrate 10X

Примерная рецептура\* на литр очищенной воды

|                        |         |                          |       |
|------------------------|---------|--------------------------|-------|
| Мочевина .....         | 200,0 г | Дрожжевой экстракт ..... | 1,0 г |
| Монокалия фосфат ..... | 91,0 г  | Феноловый красный .....  | 0,1 г |
| Динатрия фосфат .....  | 95,0 г  |                          |       |

\* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

### Urease Test Broth

Примерная рецептура\* на литр очищенной воды

|                        |        |                          |        |
|------------------------|--------|--------------------------|--------|
| Мочевина .....         | 20,0 г | Дрожжевой экстракт ..... | 0,1 г  |
| Монокалия фосфат ..... | 9,1 г  | Феноловый красный .....  | 0,01 г |
| Динатрия фосфат .....  | 9,5 г  |                          |        |

\* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

**Предупреждения и меры предосторожности.** Для диагностики *in vitro*.

Пробирки с плотными крышками следует открывать осторожно, чтобы не разбить пробирку и не пораниться осколками.

При выполнении любых процедур соблюдайте правила асептики и установленные меры биологической безопасности. После использования перед утилизацией стерилизуйте в автоклаве подготовленные пробирки, контейнеры для образцов и другие загрязненные материалы.

**Условия хранения.** После получения храните пробирки в темноте при температуре от 2 до 8 °С. Избегайте замораживания и перегрева. Открывайте непосредственно перед использованием. Среда, хранящаяся в пробирках в соответствии с указаниями на этикетке, может быть засеяна до истечения срока годности и выдержана в течение рекомендуемого инкубационного периода. Сведите к минимуму воздействие света.

**Разложение продукта.** При наличии признаков бактериального загрязнения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта не используйте пробирки.

## VIII ВЗЯТИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Подходящие для культивирования образцы можно обрабатывать, используя различные методики. Подробную информацию см. в соответствующих документах.<sup>2,4</sup> Образцы следует собирать до введения противомикробных средств. Необходимо обеспечить своевременную доставку в лабораторию.

## IX МЕТОДИКА

**Поставляемые материалы.** Urease Test Broth или Urease Broth Concentrate, 10X

**Необходимые, но непоставляемые материалы.** Требуется дополнительная питательная среда, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и лабораторное оборудование.

**Методика тестирования.** Соблюдайте асептическую методику работы.

Если используется концентрат уреазного бульона Urease Broth Concentrate 10X, подготовьте готовую среду, как описано в разделе «Контроль качества». При образовании кристаллов в концентрате они обычно растворяются при комнатной температуре или в течение нескольких минут обработки на водяной бане при температуре 40 °С.

Засейте бульон, используя плотную культуру (3 петли) из чистой культуры, выдержанной в течение 18 – 24 ч (агар TSI Agar или другая подходящая среда). Осторожно встряхните пробирки для осаждения бактерий. Инкубируйте неплотно закрытые пробирки при температуре 35 ± 2 °С с помощью инкубатора или водяной бани. Наблюдайте за реакциями через 2, 4, 6, 24 и 48 ч.

**Контроль качества.** См. раздел «Методики контроля качества».

Следуйте требованиям контроля качества в соответствии с применимыми местными, региональными и (или) федеральными законами, требованиями аккредитации и методиками контроля качества, принятыми в лаборатории. Для получения информации о надлежащих методиках контроля качества пользователям рекомендуется ознакомиться с документацией Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI, ранее NCCLS) и положениями Закона о совершенствовании работы клинических лабораторий (CLIA).

## X РЕЗУЛЬТАТЫ

На выработку уреазы указывает интенсивный розово-красный (красно-фиолетовый) цвет по всему бульону.

Об отрицательной реакции свидетельствует отсутствие изменения цвета: бульон остается желтовато-оранжевым.

Список уреазоположительных микроорганизмов см. в соответствующей документации.<sup>2,5,6</sup>

## XI ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Все тестовые среды с мочевиной основаны на демонстрации щелочности, поэтому они не предназначены специально для уреазы. Использование пептонов (например, микроорганизмом *Pseudomonas aeruginosa*) или других протеинов в среде может вызвать повышение pH до щелочности в связи с гидролизом протеинов и образование излишка аминокислотных остатков, что приводит к ложным положительным реакциям.<sup>7</sup>

Для идентификации должны использоваться микроорганизмы чистой культуры. Для окончательной идентификации необходимо выполнять морфологические, биохимические и (или) серологические тесты. Дополнительную информацию и рекомендованные методики см. в соответствующих документах.<sup>2,4-6</sup>

## XII ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Перед выпуском все серии бульона для теста на уреазу Urease Test Broth проходят испытания на эффективность. С помощью калибровочной петли 0,01 мл репрезентативные образцы партии засеваются с использованием трех петель культур *Morganella morganii* (ATCC 8019), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427) и *Salmonella Typhimurium* (ATCC 13311), выдержанных в триптиказо-соевом агаре **Trypticase Soy Agar**. Неплотно закрытые засеянные пробирки инкубируются при температуре 35 ± 2 °С и проверяются на реакции через 2, 4, 6, 24 и 48 ч. *M. morganii* и *P. vulgaris* вызывают окраску среды в розово-красный цвет в течение 4 ч, что указывает на образование аммиака от использования мочевины,

таким образом помечая среду как щелочную. *S. Typhimurium* является отрицательным для выработки уреазы, поэтому изменение цвета в среде отсутствует.

### XIII НАЛИЧИЕ

| № по каталогу | Описание |
|---------------|----------|
|---------------|----------|

|        |                                                                         |
|--------|-------------------------------------------------------------------------|
| 221719 | <b>BD BBL</b> Urease Test Broth, 3 мл, 10 пробирок размера К в упаковке |
|--------|-------------------------------------------------------------------------|

|        |                                                                               |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------|
| 221098 | <b>BD BBL</b> Urease Broth Concentrate, 10X, 10 пробирок размера К в упаковке |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------|

### XIV СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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.

Служба технической поддержки BD Diagnostics: обращайтесь к местному представителю компании BD или на сайт [www.bd.com/ds](http://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.