

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Rapid Urea Broth (caldo rápido de urea) se utiliza para la identificación presuntiva de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia gástrica antral.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Inocular directamente a partir de un cultivo reciente de reserva cultivado en **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood.
 - b. Incubar los frascos con las tapas flojas a 36 ± 1 °C durante 24 h en atmósfera aerobia.
2. Examinar los tubos a intervalos de 1, 4 y 24 h para determinar un cambio de color del caldo.
3. Resultados previstos

Organismos	ATCC	Color del caldo
<i>Campylobacter coli</i>	834	Sin reacción a trazas de rosa en 24 h
<i>Campylobacter jejuni</i>	29428	Sin reacción en 24 h (amarillo anaranjado pálido)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Sin reacción en 24 h (amarillo anaranjado pálido)
* <i>Helicobacter pylori</i>	43504	Rojo medio a rojo rosado dentro de las 4 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33495	Sin reacción en 4 h, trazas de rosa a rojo medio en 24 h
<i>Proteus vulgaris</i>	8427	Rojo rosado en 24 h

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examine los frascos como se describe en la sección "Deterioro del Producto".
2. Examinar visualmente los frascos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de $6,8 \pm 0,2$.
4. Incubar frascos representativos no inoculados a $33 - 37^{\circ}\text{C}$ y $20 - 25^{\circ}\text{C}$ durante 72 h y examinar para detectar contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Rapid Urea Broth (caldo rápido de urea) se utiliza para la identificación presuntiva de *Helicobacter pylori* en muestras de biopsia gástrica antral.

V RESUMEN Y EXPLICACIÓN

En 1983, Warren y Marshall reseñaron por primera vez la presencia de bacilos pequeños, curvos y con forma de "S" en las muestras de biopsia antral¹. Posteriormente, otros investigadores observaron una asociación entre este organismo, conocido ahora como *Helicobacter pylori* y la gastritis²⁻⁴. Sin embargo, el aislamiento y la identificación del organismo en medios primarios pueden requerir hasta siete días, lo que demora el tratamiento⁵.

McNulty desarrolló una prueba rápida de diagnóstico para la gastritis asociada a *Helicobacter*. Al observar que *H. pylori* presenta una característica hidrólisis rápida de urea, colocó muestras de biopsia en caldo de urea al 2% de Christensen y observó un cambio de color. Según el número de organismos presentes en la muestra, se pueden observar resultados positivos en menos de 1 h⁶.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La enzima ureasa cataliza la hidrólisis de urea para producir amonio e iones de bicarbonato. Dado que la ureasa no es una enzima humana, su actividad en la mucosa gástrica se debe principalmente a la presencia de *H. pylori*⁷. La enzima ureasa ya formada que se encuentra presente en las muestras de biopsia hace que el caldo de ureasa sea alcalino y cambia a un color de rosa a rojo el indicador de rojo fenol en el medio.

VII REACTIVOS

Rapid Urea Broth

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de gelatina.....	1,0	g
Dextrosa.....	1,0	g
Cloruro sódico	5,0	g
Fosfato potásico	2,0	g
Urea	20,0	g
Rojo fenol	0,012	g

*Ajustada y/o complementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones: Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los frascos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁸⁻¹¹ y las directrices del centro. Esterilizar en autoclave los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado antes de desecharlos.

Instrucciones de almacenamiento: Al recibir los frascos, almacenarlos en lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que se vayan a utilizar. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los frascos en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto: No utilizar los frascos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, precipitado, evaporación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras de biopsia antral pueden colocarse directamente en Rapid Urea Broth, solución salina estéril u otro material adecuado^{12,13}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Se deben adoptar las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados: Rapid Urea Broth

Materiales necesarios pero no suministrados: Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis: Después de obtener la muestra mediante biopsia antral, debe colocarse de inmediato en Rapid Urea Broth. Si la muestra se transporta en solución salina al laboratorio, debe transferirse inmediatamente al Rapid Urea Broth. Colocar los frascos en una incubadora a 35 ± 2 °C y observar la aparición de color rojo en el plazo de 1 h. En el caso de un resultado negativo, continuar la incubación y observar periódicamente durante un máximo de 4 h.

Control de calidad del usuario: Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones pertinentes del CLSI y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

La presencia de ureasa se indica por un color rojo rosado intenso en todo el caldo. Una reacción negativa no presenta cambio de color; es decir, el medio de caldo sigue presentando un color naranja amarillento. Los resultados deben confirmarse con tinción de Gram y subcultivo en un medio apropiado, por ejemplo, medio Skirrows^{7,12,13}.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los medios de prueba de urea dependen de la demostración de alcalinidad; por consiguiente, no son específicos de la ureasa. La utilización de peptonas por los organismos contaminantes u otras proteínas en el medio pueden elevar el pH hasta producir alcalinidad, debido a la hidrólisis de las proteínas y la liberación de una cantidad excesiva de residuos aminoácidos, lo que genera reacciones positivas falsas^{14,15}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Rapid Urea Broth se analizan para verificar las características específicas del producto. Las muestras se inoculan directamente con un cultivo reciente de *Helicobacter pylori* ATCC 43504 y *Escherichia coli* ATCC 25922 cultivado en **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood. Los frascos se incuban con las tapas flojas en una atmósfera aerobia a 35 – 37 °C. Una reacción positiva (cambio de color de naranja amarillento a rojo rosado) se observa con *H. pylori*. *E. coli* sigue presentando un resultado negativo después de 24 h.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
298330	BD BBL Rapid Urea Broth, pqt. de 10 frascos

XIV REFERENCIAS

1. Warren, J.R., and B. Marshall. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* *i*:1273-1275.
2. Rauws, E.A.J., W. Langenberg, H.J. Houthoff, H.C. Zanen, and G.N.J. Tytgat. 1988. *Campylobacter pyloridis*-associated chronic active antral gastritis. *Gastroenterology* *94*:33-40.
3. Marshall, B.J., J.A. Armstrong, D.B. McGeachie, and R.J. Glancy. 1985. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric campylobacter. *Med. J. Aust.* *142*:436-439.
4. Buck, G.E., W.K. Gourley, W.K. Lee, K. Subramanyam, J.M. Latimer, and A.R. DiNuzzo. 1986. Relation of *Campylobacter pyloridis* to gastritis and peptic ulcer. *J. Infect. Dis.* *153*:664-669.
5. Czinn, S.J., and H. Carr. 1987. Rapid diagnosis of *Campylobacter pyloridis*-associated gastritis. *J. Pediatr.* *110*:569-570.
6. McNulty, C.A.M., and R. Wise. 1985. Rapid diagnosis of *Campylobacter*-associated gastritis. *Lancet* *i*:1443-1444.
7. Bates, H.M. 1987. *C. pylori*-induced gastritis and peptic ulcers. *Lab. Management* *25*(11):27-31.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
9. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* *17*:53-80.
10. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
11. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
12. Coudron, P.E., and D.F. Kirby. 1989. Comparison of rapid urease tests, staining techniques, and growth on different solid media for detection of *Campylobacter pylori*. *J. Clin. Microbiol.* *27*:1527-1530.
13. Nachamkin, I. 1995. *Campylobacter* and *Arcobacter*, p. 483-491. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
14. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
15. Westblom, T.U., E. Madan, J. Kemp, and M. Subik. 1988. Evaluation of a rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection. *J. Clin. Microbiol.* *26*:1393-1394.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite 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