

PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

Le Rapid Urea Broth (bouillon à l'urée rapide) sert à l'identification présomptive de *Helicobacter pylori* à partir d'échantillons prélevés par biopsie antrale gastrique.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Ensemencer directement à partir d'une culture mère fraîchement préparée sur **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood.
 - b. Incuber les flacons à 36 ± 1 °C pendant 24 h en atmosphère aérobie, avec les bouchons desserrés.
2. Examiner les flacons après 1, 4 et 24 h afin de déceler un changement de couleur du bouillon.
3. Résultats attendus

Microorganismes	ATCC	Couleur du bouillon
<i>Campylobacter coli</i>	834	Aucune réaction à traces de rose sur 24 h
<i>Campylobacter jejuni</i>	29428	Aucune réaction sur 24 h (jaune pâle-orange)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Aucune réaction sur 24 h (jaune pâle-orange)
* <i>Helicobacter pylori</i>	43504	Rouge moyen à rose-rouge dans les 4 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33495	Aucune réaction sur 4 h, traces de rose à rouge moyen sur 24 h
<i>Proteus vulgaris</i>	8427	Rose-rouge sur 24 h

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

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les flacons comme indiqué à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des flacons représentatives pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Mesurer le pH par potentiométrie à température ambiante et s'assurer qu'il est conforme à la spécification de $6,8 \pm 0,2$.
4. Incuber des flacons représentatives non ensemencées à $33 - 37$ °C et $20 - 25$ °C et les examiner après 72 h pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS SUR LE PRODUIT

IV APPLICATION

Le Rapid Urea Broth (bouillon à l'urée rapide) sert à l'identification présomptive de *Helicobacter pylori* à partir d'échantillons prélevés par biopsie antrale gastrique.

V RESUME ET EXPLICATION

La présence de petits bacilles courbes en forme de S dans les échantillons prélevés par biopsie antrale a été rapportée pour la première fois par Warren et Marshall en 1983.¹ Par la suite, d'autres chercheurs ont décrit une association entre ce microorganisme, nommé *Helicobacter pylori*, et la gastrite.²⁻⁴ Cependant, l'isolement et l'identification du microorganisme sur des milieux primaires peut nécessiter jusqu'à 7 jours, retardant ainsi d'autant le traitement.⁵

McNulty a mis au point un test diagnostique rapide de la gastrite à *Helicobacter*. Ayant remarqué que l'hydrolyse rapide de l'urée est caractéristique de *H. pylori*, il a placé les échantillons prélevés par biopsie dans du bouillon à l'urée à 2 % de Christensen et observé un changement de couleur. Suivant le nombre de microorganismes présents dans l'échantillon, les résultats positifs pouvaient être obtenus en moins d'1 h.⁶

VI PRINCIPES DE LA METHODE

L'uréase catalyse l'hydrolyse de l'urée en ions ammonium et bicarbonate. Comme l'uréase est absente chez l'homme, une activité uréase dans la muqueuse gastrique est due principalement à la présence de *H. pylori*.⁷ L'uréase présente dans les échantillons prélevés par biopsie provoque l'alcalinisation du bouillon de test uréase et le virage de l'indicateur rouge de phénol du milieu au rose-rouge.

VII REACTIFS

Rapid Urea Broth

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine.....	1,0	g
Dextrose.....	1,0	g
Chlorure de sodium.....	5,0	g
Phosphate de potassium.....	2,0	g
Urée.....	20,0	g
Rouge de phénol.....	0,012	g

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

Avertissements et précautions : Pour le diagnostic *in vitro*.

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

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »⁸⁻¹¹ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques. Stériliser à l'autoclave les récipients contenant les échantillons et les autres matériaux contaminés avant de les éliminer.

Instructions pour la conservation : Dès réception, conserver les flacons dans l'obscurité entre 2 et 8 °C. Eviter de congeler ou de surchauffer. Ne pas les ouvrir prématurément. Les maintenir à l'abri de la lumière. Conservés comme indiqué sur l'étiquette, les flacons peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption et incubés pendant les durées d'incubation recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit : Ne pas utiliser les flacons s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration, précipitation ou évaporation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons prélevés par biopsie antrale peuvent être placés directement dans le Rapid Urea Broth, du sérum physiologique stérile ou tout autre milieu adapté.^{12,13} Les échantillons devraient être prélevés avant que des agents antimicrobiens n'aient été administrés. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX METHODE

Matériaux fournis : Rapid Urea Broth

Matériaux requis mais non fournis : Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test : Si l'échantillon a été prélevé par biopsie antrale, le placer immédiatement dans du Rapid Urea Broth. Si l'échantillon a été transporté dans du sérum physiologique jusqu'au laboratoire, le transférer immédiatement dans du Rapid Urea Broth. Placer les flacons dans un incubateur à 35 ± 2 °C et surveiller l'apparition d'une coloration rouge dans l'heure qui suit. En cas de résultat négatif, poursuivre l'incubation et examiner périodiquement les flacons jusqu'à 4 h.

Contrôle de qualité par l'utilisateur : Voir " Procédures de contrôle de qualité ".

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 correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

La présence d'uréase est indiquée par une coloration rose-rouge intense dans tout le bouillon. Une réaction négative est indiquée par une absence de changement de couleur, le bouillon demeurant jaune orangé. Les résultats doivent être confirmés par coloration de Gram et repiquage sur un milieu approprié, comme le milieu Skirrows.^{7,12,13}

XI LIMITES DE LA METHODE

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 ou d'autres protéines présentes dans le milieu par des microorganismes contaminants 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 entraîne des faux positifs.^{14,15}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances de tous les lots de Rapid Urea Broth sont testées en usine. Des échantillons sont ensemencés directement avec une culture de *Helicobacter pylori* ATCC 43504 et d'*Escherichia coli* ATCC 25922 fraîchement préparée sur **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood. Les flacons sont incubés, avec les bouchons desserrés, à une température comprise entre 35 et 37 °C. *H. pylori* produit une réaction positive (changement de couleur du jaune orangé au rose-rouge). Avec *E. coli*, la réaction est négative après 24 h (absence de changement de couleur).

XIII DISPONIBILITE

N° réf.	Description
298330	BD BBL Rapid Urea Broth, coffret de 10 flacons

XIV REFERENCES

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.

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 and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD