

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Rapid Urea Broth (brodo urea rapido) è usato per l'identificazione presuntiva di *Helicobacter pylori* in campioni di biopsia dell'antro gastrico.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare dei campioni rappresentativi con le colture sottoelencate.
 - a. Inoculare direttamente da una coltura stock fresca cresciuta su **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood**.
 - b. Incubare i flaconi con i tappi non completamente avvitati, a 36 ± 1 °C per 24 h in aerobiosi.
2. Esaminare i flaconi a intervalli di 1, 4 e 24 h per verificare un cambiamento di colore del brodo.
3. Risultati attesi

Microrganismi	ATCC	Colore del brodo
<i>Campylobacter coli</i>	834	Da nessuna reazione a rosa a tracce a 24 h
<i>Campylobacter jejuni</i>	29428	Nessuna reazione a 24 h (giallo pallido-arancio)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Nessuna reazione a 24 h (giallo pallido-arancio)
* <i>Helicobacter pylori</i>	43504	Da rosso medio a rosa-rosso entro 4 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33495	Nessuna reazione a 4 h, da rosa a tracce a rosso medio a 24 h
<i>Proteus vulgaris</i>	8427	Rosa-rosso a 24 h

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

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare i flaconi come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo dei flaconi rappresentativi 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 $33 - 37^\circ\text{C}$ e $20 - 25^\circ\text{C}$ per 72 h dei flaconi rappresentativi non inoculati ed esaminarli per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Rapid Urea Broth (brodo urea rapido) è usato per l'identificazione presuntiva di *Helicobacter pylori* in campioni di biopsia dell'antro gastrico.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La presenza di piccoli bacilli curvi e a forma di S nei campioni di biopsia dell'antro gastrico è stata descritta per la prima volta da Warren e Marshall nel 1983.¹ In seguito, altri ricercatori hanno osservato un'associazione tra questo microrganismo, ora conosciuto come *Helicobacter pylori* e la gastrite.²⁻⁴ L'isolamento e l'identificazione del microrganismo su terreni primari possono tuttavia richiedere sino a 7 giorni, ritardando il trattamento.⁵

McNulty ha sviluppato un test diagnostico rapido per la gastrite associata a *Helicobacter*. Avendo rilevato che l'idrolisi rapida dell'urea è tipica di *H. pylori*, ha posto campioni bioptici in brodo urea di Christensen al 2% e ha osservato una variazione cromatica. Ciò ha consentito di osservare risultati positivi in meno di 1 h, a seconda della quantità di microrganismi presenti nel campione.⁶

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

L'enzima ureasi catalizza l'idrolisi dell'urea in ioni bicarbonato e ammonio. Poiché l'ureasi non è un enzima umano, la sua attività nella mucosa gastrica è dovuta principalmente alla presenza di *H. pylori*.⁷ L'enzima ureasi preformato presente nei campioni bioptici rende il brodo ureasi alcalino e fa virare l'indicatore rosso fenolo nel terreno al rosa-rosso.

VII REAGENTI

Rapid Urea Broth

Formula approssimata* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di gelatina.....	1,0	g
Destrosio.....	1,0	g
Cloruro di sodio.....	5,0	g
Fosfato di potassio.....	2,0	g
Urea.....	20,0	g
Rosso fenolo.....	0,012	g

*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

Avvertenze e precauzioni: Per uso diagnostico *in vitro*.

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

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".⁸⁻¹¹ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Modalità di conservazione: Al ricevimento, conservare i flaconi al buio a 2 – 8 °C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I flaconi conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto: Non usare i flaconi se presentano evidenze di contaminazione microbica, alterazione di colore, precipitazione, evaporazione o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni da biopsia dell'antro gastrico possono essere posti direttamente nel Rapid Urea Broth, in soluzione fisiologica sterile o altro materiale adatto.^{12,13} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito: Rapid Urea Broth

Materiali necessari ma non forniti: Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test: Una volta prelevato il campione mediante biopsia dell'antro gastrico, porlo immediatamente nel Rapid Urea Broth. Se il campione perviene in laboratorio in soluzione fisiologica, trasferirlo immediatamente nel Rapid Urea Broth. Porre i flaconi in un incubatore a 35 ± 2 °C e osservare se entro 1 h si sviluppa un colore rosso. In caso di risultato negativo, continuare l'incubazione e osservare di tanto in tanto per un massimo di 4 h.

Controllo di qualità a cura dell'utente Vedere "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. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

X RISULTATI

La presenza di ureasi è indicata dallo sviluppo di un colore rosa-rosso intenso in tutto il brodo. L'assenza di variazione cromatica indica una reazione negativa, il brodo resta cioè di colore giallognolo-arancio. Confermare i risultati mediante colorazione di Gram e subcoltura in un terreno appropriato, es. terreno Skirrows.^{7,12,13}

XI LIMITI DELLA PROCEDURA

I terreni per test dell'urea si basano sulla dimostrazione di alcalinità e pertanto non sono specifici per l'ureasi. L'utilizzo di peptoni da parte di microrganismi contaminanti 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.^{14,15}

XII CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prima della spedizione, vengono testati tutti i lotti di dischi Rapid Urea Broth per verificarne le caratteristiche specifiche. I campioni vengono inoculati direttamente con una coltura fresca di *Helicobacter pylori* ATCC 43504 ed *Escherichia coli* ATCC 25922 cresciuta su **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood. I flaconi vengono incubati con i tappi non completamente avvitati a 35 – 37 °C in aerobiosi. Viene osservata una reazione positiva (viraggio dal giallo-arancio al rosa-rosso) con *H. pylori*, mentre *E. coli* resta negativo (nessun viraggio) dopo 24 h.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
298330	BD BBL Rapid Urea Broth, confezione da 10 flaconi

XIV BIBLIOGRAFIA

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.

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