



BBL Urea Agar Base Concentrate 10X BBL Urea Agar Slants, Complete

L007521 • Rev. 11 • settembre 2015



PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ (Facoltativo)

I INTRODUZIONE

Urea Agar è un terreno usato per differenziare i 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 da Urea Agar Base Concentrate 10X

1. Per preparare il terreno Urea Agar, dispensare 1,7 g di agar granulare in 100 mL di acqua purificata. Riscaldare agitando e bollire per 1 min.
2. Dispensare aliquote di 9 mL nelle provette e sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 min.
3. Raffreddare l'agar a 45 – 50 °C e attendere che una provetta di concentrato si porti a temperatura ambiente. Dispensare 1 mL di concentrato in ciascuna provetta da 9 mL di soluzione agar raffreddata e mescolare accuratamente.
4. Lasciare raffreddare le provette in posizione inclinata in modo da formare slant con fondo allungato.

B. Test del terreno completo (Urea Agar Slant)

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, inoculare le superfici slant con inoculi di rilevante entità di colture slant di 24 – 48 h di **Trypticase Soy Agar**. Non inoculare il fondo.
 - b. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C in aerobiosi.
2. Esaminare le provette dopo 2, 4, 6 e 24 h per verificare la crescita e le reazioni.
3. Risultati attesi

Microorganismi di controllo (ceppi ATCC)

Reazione ureasi

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

ATCC 8427

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

ATCC 8019

**Salmonella enterica* ssp. *enterica* – (Nessuna variazione cromatica)

sierotipo Typhimurium

ATCC 13311

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

N.B.: Questo terreno è esente dai test di controllo qualità a cura dell'utilizzatore ai sensi della norma CLSI M22-A3.

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 ± 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

Urea Agar è usato per la differenziazione di microrganismi, soprattutto *Enterobacteriaceae* spp., in base alla produzione di ureasi.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

L'urea agar è stato concepito da Christensen per essere usato come terreno solido per la differenziazione di bacilli enterici.¹ Differenzia i microrganismi *Proteae* ureasi-positivi rapidi (*Proteus* spp., *Morganella morganii* ssp. *morganii*, *Providencia rettgeri* e alcuni ceppi di

Providencia stuartii) da altri microrganismi ureasi-positivi: *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* e batteri non *Enterobacteriaceae*, ossia alcune specie *Bordetella* e *Brucella*.²

La base è fornita anche come soluzione concentrata 10X sterilizzata mediante filtrazione, da usare nella preparazione di slant Urea Agar nel laboratorio dell'utente.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il terreno urea di Rustigian e Stuart³ è particolarmente adatto alla differenziazione della specie *Proteus* da altri bacilli enterici gram-negativi in grado di utilizzare l'urea,¹ 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. Nell'intento di fornire un terreno di maggiore utilità, Christensen¹ concepì l'Urea Agar con aggiunta di peptone e destrosio e contenuto tampone ridotto per promuovere una crescita più rapida di numerosi membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae* e consentire una riduzione del tempo di incubazione.

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

BBL Urea Agar Base Concentrate 10X

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di gelatina	10,0	g
Destrosio	10,0	g
Cloruro di sodio	50,0	g
Fosfato di potassio	20,0	g
Urea	200,0	g
Rosso fenolo	0,12	g

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

BBL Urea Agar Slants, Complete

Formula approssimata* per L 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
Agar	15,0	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 asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

221100 BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, confezione da 10 provette di misura K

Attenzione



H315 Provoca irritazione cutanea. **H319** Provoca grave irritazione oculare.

P103 Leggere l'etichetta prima dell'uso. **P264** Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P280** Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. **P305+P351+P338** IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Istruzioni per la 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 fino 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 varie tecniche. Per informazioni dettagliate, consultare la documentazione appropriata.^{4,5} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

BBL Urea Agar Base Concentrate 10X o

BBL Urea Agar Slants, Complete

Materiali necessari ma non forniti

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

Procedura del test

Adottare tecniche aseptiche.

In caso di utilizzo di Urea Agar Base 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.

Usando un inoculo di rilevante entità della crescita di una coltura pura di 18 – 24 h (TSI Agar o altro terreno adatto), strisciare avanti e indietro su tutta la superficie slant. Non penetrare nel fondo in quanto serve da controllo del colore. Incubare le provette – con i tappi non completamente avvitati – a 35 ± 2 °C in incubatore o bagnomaria. Osservare le reazioni dopo 2, 4, 6 e 24 h e successivamente ogni giorno, per un totale di 6 giorni. Potrebbero essere necessari periodi di incubazione ancora più lunghi.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Ciascun lotto di terreno è stato testato utilizzando organismi per il controllo di qualità appropriati, e tali test soddisfano le specifiche di prodotto e gli standard CLSI, ove opportuno. Come di consueto, i test di controllo qualità devono essere eseguiti in ottemperanza alle normative locali, statali, federali o nazionali vigenti, nonché ai requisiti di certificazione e/o alle procedure standard di controllo di qualità del laboratorio specifico.

X RISULTATI

La produzione di ureasi è indicata dallo sviluppo di un colore rosa-rosso intenso (rosso-violetto) sullo slant. Il colore può penetrare nell'agar (fondo); il grado di colore indica la velocità di idrolisi dell'urea.⁶

L'assenza di variazione cromatica indica una reazione negativa; il terreno agar resta giallo pallido – color cuoio.

Per un elenco di microrganismi ureasi-positivi, consultare la documentazione appropriata.^{5,7,8}

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Questi terreni per test dell'urea si basano sulla dimostrazione di alcalinità e pertanto non sono specifici per l'ureasi. L'utilizzo di peptoni, soprattutto in slant agar (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.²
2. Su Urea Agar, *Proteeae* ureasi-positive trasformano il terreno in alcalino subito dopo l'inoculo. Per essere considerati validi per la rilevazione di *Proteeae*, i risultati devono essere letti entro le

prime 6 h di incubazione. *Citrobacter freundii* e *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* possono produrre reazioni positive entro 24 – 48 h.²

3. 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.^{4,5,7}

XII PERFORMANCE

Kantor et al. hanno sviluppato una metodica rapida e semplificata usando un minimo di tre test e un massimo di sette test, che i laboratori possono utilizzare routinariamente per identificare batteri gram-negativi non fermentanti. Con questa metodica, sono stati complessivamente identificati 229 microrganismi gram-negativi non fermentanti e 14 ceppi di riferimento. L'Urea Agar è stato usato per differenziare *Alcaligenes* spp. e *Pseudomonas alcaligenes* da *Bordetella bronchiseptica*.⁹

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

221100	BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, confezione da 10 provette di misura K
221096	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, confezione da 10 provette di misura K
221097	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, scatola da 100 provette di misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. 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.
2. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacterial, 3rd ed., Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Rustigian, R., and C.A. Stuart. 1941. Decomposition of urea by *Proteus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 47:108-112.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Tenover and R.H. Tenover (ed.) 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
6. Ewing, W.H. 1985. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. 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.
8. Farmer, J.J., III. 1999. Enterobacteriaceae: introduction and identification, p. 442-458. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Tenover, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Kantor, L.T., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Technol.* 41:3-9.

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