



BBL Urease Broth Concentrate 10X



BBL Urease Test Broth, 3 mL

L007522 • Rev. 09 • Septiembre 2014

PROCEDIMIENTOS DE CALIDAD

I INTRODUCCIÓN

El Caldo Test Ureasa (de Stuart) es un medio diferencial para organismos, en especial los miembros de la especie *Enterobacteriaceae*, según su capacidad de producir ureasa.

II RENDIMIENTO DEL PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

A. Instrucciones para la preparación de un medio completo a partir del Concentrado caldo ureasa (10X)

1. Para preparar el medio, agregar asépticamente 1 mL del concentrado a 9 mL de agua purificada estéril fría. Mezclar bien.
2. Dispensar asépticamente dosis de 3 mL en tubos de ensayo pequeños estériles.
- B. Análisis del medio completo (Caldo Test Ureasa [de Stuart])
 1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Con un asa calibrada de 0,01 mL, inocular el caldo con gran cantidad de inóculos (3 asas llenas) de cultivos de agar inclinado de soja **Trypticase** de 24 a 48 h.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a una temperatura de 35 ± 2 °C (en incubadora o baño María) en una atmósfera aeróbica.
 2. Examinar los tubos después de 2, 4, 6 y 24 h en busca de crecimiento y reacciones.
 3. Resultados previstos

Reacción de ureasa

<i>*Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	+ (Color rosa rojo a rojo violeta intenso)
<i>Morganella morganii</i> subespecie <i>morganii</i> ATCC 8019	+ (Color rosa rojo a rojo violeta intenso)
<i>*Salmonella enterica</i> subespecie <i>enterica</i> serotipo Typhimurium ATCC 13311	– (Sin cambio de color)

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

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examine los tubos como se describe en la sección “Deterioro del producto”.
2. Examinar a simple vista los tubos representativos para cerciorarse de que los posibles 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 los tubos representativos inoculados a una temperatura de 20 a 25 °C y de 30 a 35 °C y examinar después de 7 días de contaminación microbiana.

INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

El Caldo Test Ureasa (de Stuart) se utiliza para la diferenciación de organismos, en especial el grupo *Enterobacteriaceae*, según la producción de ureasa.

V RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El Caldo Test Ureasa (de Stuart) fue desarrollado por Rustigian y Stuart¹. Puede utilizarse para la identificación de bacterias según la utilización de ureasa, y se recomienda particularmente para la diferenciación de los miembros del género *Proteus* de los de *Salmonella* y *Shigella* en el diagnóstico de infecciones entéricas². El medio tiene resultado positivo para *Proteus*, *Morganella morganii*, subespecie *morganii*, *Providencia rettgeri* y algunas cepas de *Providencia stuartii* con la reclasificación de los miembros del grupo *Proteeae*.

La base de ureasa también se suministra en forma de solución concentrada (10X) esterilizada por filtración para su uso en la preparación del Caldo Test Ureasa (de Stuart) en el laboratorio del usuario.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El medio de urea de Rustigian y Stuart¹ es particularmente adecuado para la diferenciación de la especie *Proteus* de otros bacilos entéricos gramnegativos capaces de utilizar urea³. Dichos bacilos no tienen la capacidad mencionada en el Caldo Test Ureasa (de Stuart) debido a la limitación de nutrientes y la alta capacidad tampón del medio.

Cuando los organismos utilizan la urea, se produce amoníaco durante la incubación, lo que hace la reacción de dichos medios alcalina y genera un color rosa rojo. En consecuencia, la producción de ureasa puede detectarse mediante el cambio en el indicador rojo fenol.

VII REACTIVOS

Concentrado caldo ureasa (10X)

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Urea	200,0 g
Fosfato monopotásico	91,0 g
Fosfato disódico	95,0 g
Extracto de levadura	1,0 g
Rojo fenol	0,1 g

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

Caldo Test Ureasa (de Stuart)

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Urea	20,0 g
Fosfato monopotásico	9,1 g
Fosfato disódico	9,5 g
Extracto de levadura	0,1 g
Rojo fenol	0,01 g

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

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

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

Emplee una técnica aséptica y siga las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Después de su utilización, los tubos preparados, recipientes para muestras y los materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

En el momento de la entrega, guardar los tubos en un lugar oscuro a una temperatura de 2 a 8 °C. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Los medios 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. Reducir al mínimo la exposición a la luz.

Deterioro del producto

No utilice los tubos si muestran indicios de contaminación microbiana, decoloración o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consulte los textos correspondientes^{2,4}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben realizarse disposiciones para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Urease Test Broth o Urease Broth Concentrate, 10X

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos de control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera para llevar a cabo este procedimiento.

Procedimiento del análisis

Emplear técnicas asépticas.

Si se utiliza Concentrado caldo ureasa (10X), preparar todo el medio como se describe en la sección Control de calidad. Si se forman cristales en el concentrado, por lo general se disolverán a temperatura ambiente, o bien en algunos minutos en baño María a 40 °C.

Inocular el caldo con gran cantidad de inóculo (3 asas llenas) de crecimiento de un cultivo puro de 18 – 24 h (Agar TSI u otro medio adecuado). Agitar los tubos con cuidado para preparar la suspensión de bacterias. Incubar los tubos con las tapas aflojadas a una temperatura de 35 ± 2 °C en incubadora o baño María. Observar las reacciones después de 2, 4, 6, 24 y 48 h.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad" anteriormente en el documento para obtener información del control de calidad del usuario.

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 de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

La producción de ureasa se indica por un color rosa rojo (rojo violeta) intenso en todo el caldo.

Una reacción negativa no produce cambio de color: el caldo conserva su color naranja amarillento.

Para obtener una lista de organismos positivos a la producción de ureasa, consultar los textos correspondientes^{2,5,6}.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Todos los medios de prueba de urea dependen de la demostración de alcalinidad; por consiguiente, no son específicos para la ureasa. La utilización de peptonas (por ejemplo, por *Pseudomonas aeruginosa*) 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 falsas⁷.

Con fines de identificación, los organismos deben encontrarse en cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consulte los textos correspondientes para obtener información detallada y los procedimientos recomendados^{2,4,6}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento, todos los lotes del Caldo Test Ureasa (de Stuart) se someten a prueba para determinar las características de rendimiento. Mediante un asa calibrada de 0,01 mL, muestras representativas del lote se inoculan con tres asas llenas de cultivos de agar de soja **Trypticase** con *Morganella morganii* (ATCC 8019), *Proteus vulgaris* (ATCC 8427) y *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311). Los tubos inoculados con las tapas aflojadas se incuban a una temperatura de 35 ± 2 °C y se procede a su lectura a las 2, 4, 6, 24 y 48 h en busca de reacciones. *M. morganii* y *P. vulgaris* producen un color rosa rojo en el medio dentro de las 4 h, lo que indica la formación de amoníaco, debido a la utilización de urea, y así el medio se convierte en alcalino. *Salmonella* Typhimurium da resultado negativo a la producción de ureasa y no se produce cambio de color en el medio.

XIII DISPONIBILIDAD

N.º cat.	Descripción
221719	BD BBL Urease Test Broth , 3mL, envase de 10 tubos de tamaño K
221098	BD BBL Urease Broth Concentrate , 10X, envase de 10 tubos de tamaño K

XIV REFERENCES

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.

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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.