



ANVÄNDNINGSSINSTRUKTIONER

UREA BROTH BASE (STUART) UREA 40 % SOLUTION

Dehydrerat odlingsmedium och supplement

Urea-buljong – från vänster:
oinokulerat rör, *P. vulgaris*, *E. coli***1 – AVSEDD ANVÄNDNING**

In vitro-diagnostik. Basalt medium och ureasupplement för bestämning av ureasenzymet som hjälpmedel för differentiering av medlemmar av familjen *Enterobacteriaceae*.

2 – TYPISK SAMMANSÄTTNING**UREA BROTH BASE (STUART)**

(EFTER REKONSTITUERING MED 1 LITER VATTEN) *

Jästextrakt	0,10 g
Kaliumdivätefosfat	9,10 g
Dinatriumvätefosfat	9,50 g
Fenolrött	0,01 g

*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de erforderliga prestandakriterierna.

UREA 40% SOLUTION (INNEHÅLL I FLASKA)

	REF 42211601	REF 4240096
Urea	20 g	2 g
Renat vatten	50 ml	5 ml

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Urea Broth Base, framställt enligt Rustigian och Stuarts recept¹, är ett medium för bestämning av enzymet ureas (urea amidohydrolas), som ett hjälpmedel för differentiering av medlemmar av *Enterobacteriaceae*. Mediet ger positiva resultat för *Proteus* spp., de flesta *Morganella*-arter och vissa stammar av *Providencia stuartii*.² Urea-buljong används främst för att differentiera *Proteus* spp. (ureaspositiv) från *Salmonella* spp. och *Shigella* spp. (ureanegativ) och andra enterobakterier som hydrolyserar urea långsamt och är negativa på detta medium.

Jästextrakt i låga koncentrationer (0,01 %) tillhandahåller de väsentliga element som krävs för tillväxt av *Proteus*-stammar som producerar mycket ureas och använder ammoniumjoner, som produceras genom ureahydrolys, som sin enda kvävekälla. Enterobakterier som hydrolyserar urea långsamt kan endast förlita sig på den begränsade koncentrationen av jästextrakt för tillväxt och testar därför negativt för urea på detta medium. Dessutom tenderar det starka buffertsystemet att minska pH-förändringar i närvaro av låga nivåer av ammoniumjonproduktion.³

Urea, som tillsätts till basmediet, hydrolyseras av mikroorganismerna med bildning av ammoniumjoner och efterföljande alkalisk reaktion som inducerar fenolröda färgförändring till purpurfärg när mediets pH överstiger 8,1.³

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 18,7 g i 950 ml kallt renat vatten. Värm för att lösa upp och sterilisera genom autoklavering vid 121 °C i 15 minuter. Kyl ner till cirka 47–50 °C och tillsätt, under aseptiska förhållanden, 50 ml 40 % Solution av urinämne (REF 42211601). Blanda väl och fördela det färdiga mediet i mängder om 3–5 ml i sterila rör.

5 – FYSISKA EGENSKAPER**Urea Broth Base (Stuart)**

Utseende på dehydratiserat medium

Utseende på lösning och färdiga rör

Slutligt pH vid 20–25 °C

Urea 40 % lösning

Utseende på lösningen

rosaaktigt, fint, homogent, fritt flytande pulver

orange, klar

6,8 ± 0,1

färglös, klar

6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Urea Broth Base (Stuart)	Dehydrerat medium	4021802	500 g (26,7 L)
Urea 40 % lösning	Flytande supplement	42211601 4240096	50 ml 10 x 5 ml

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Autoklav, vattenbad, sterila ögilor, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, Erlenmeyer-kolvar, rör med skruvlock, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

8 – PROVER

Urea Broth, kompletterad med urea-lösning, ska inte användas för direkt inokulering av kliniska prover. Proverna består av isolat från renkultur som har odlats på fast medium.





9 – TESTFÖRFARANDE

Inokulera buljongen rikligt med 3 fulla öglor (2 mm slinga) från en 18–24 timmars ren odling erhållen på TSI eller annat lämpligt medium. Skaka provröret försiktigt för att suspendera kolonierna. Inkubera provrören med lösa lock vid 35–37 °C i en inkubator eller ett vattenbad i 8–48 timmar. Undersök buljongen för färgförändringar efter 2, 4, 6, 18, 24 och 48 timmars inkubering.

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observerar du färgförändringen i mediet.

Ett positivt testresultat (ureahydrolys) indikeras av en rosa (fuchsia) färg.

Ett negativt test indikeras av att mediet har oförändrad färg.

Proteus spp. inducerar snabb alkalisering av mediet. *P.vulgaris* och *P.mirabilis* är positiva efter cirka 8 timmars inkubation, *P.rettgeri* efter cirka 12 timmar; *M.morganii* kan kräva upp till 36 timmars inkubation och vid tolkningssvårigheter jämför man färgen med ett icke-inokulerat rör eller inkuberar i ytterligare 24 timmar.

Inom 48 timmar efter inkubation kommer dessa stammar dock att utveckla en positiv reaktion.²

Bakterier med låg och fördröjd ureasaktivitet (t.ex. *Enterobacter*) kommer inte att testa positivt för ureas på grund av mediets höga buffertkapacitet.

När testet har registrerats som positivt, kasta rören utan att förlänga inkubationen.

11 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkterna släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Här nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontrollen.

Ureaspositiv kontroll: *P.vulgaris* ATCC 9484

Ureasnegativ kontroll: *E.coli* ATCC 25922

Inkubation: 35 ± 37 °C i 18–24 timmar

ATCC är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection

12 – PRESTANDAEGENSKAPER

Innan produkten släpps ut på marknaden testas ett representativt prov från alla partier av dehydrerad urea-buljongbas, kompletterad med 50 ml /L urea 40 %-lösning, med avseende på prestandaegenskaper och resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti. Rena kolonier odlade på Tryptone Soy Broth av 4 snabba ureaspositiva stammar (*P.mirabilis* ATCC 12453, *P.vulgaris* ATCC 9484, *P.rettgeri* ATCC 39944 och ett kliniskt isolat av *P.morganii*), 3 fördröjda ureaspositiva stammar (*K.pneumoniae* ATCC 27736, *E.aerogenes* ATCC 13048 och *C.freundii* ATCC 8090) och 4 urease-negativa stammar (*S.Typhimurium* ATCC 14028, *S.flexnei* ATCC 12022, *E.coli* ATCC 25922 och *P.aeruginosa* ATCC 14027) inokuleras i provrörsmediet. Färgförändring av mediet observeras efter 6, 24, 48 timmars inkubation vid 35–37 °C: endast de 4 *Proteus*-stammarna utvecklar en positiv reaktion för ureas.

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Urea Broth är ett starkt buffrat medium som kräver stora mängder ammoniak för att höja pH till 8,1, vilket resulterar i en färgförändring. Långsamt och svagt ureaspåverkade stammar, på grund av den låga koncentrationen av jästextrakt och ett starkt buffertsystem, framträder som ureanegativa på Urea Broth (Stuart).^{2,3}
- En purpurödd färgförändring inträffar när pH-värdet når 8,1. Inokulering påverkar avsevärt den tid som bakteriestammen behöver för att utveckla dessa alkalinitetsvärden och därmed en positiv reaktion.³
- Ureasreaktionens hastighet påverkas också av volymen av flytande medium i röret; Stuart et al.¹ rapporterar att med ökande volymer på 1,5 ml, 3 ml, 4,5 ml, 6 ml, för samma inokulum, ökar tiden för utveckling av den positiva reaktionen och att den minsta volymen för testet är 1,5 ml.
- Urea Broth-rör är inte lämpliga för kvantitativ utvärdering av ureahydrolys.
- Även om mikroorganismkolonierna differentieras på basis av ureahydrolys rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från ren odling för fullständig identifiering. Om det är relevant, utför test av antimikrobiell känslighet.
- Odlingsmediet och supplementet är avsedda som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar; tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten av andra diagnostiska tester.

14 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Mediumbasen och supplementet är kvalitativa *in vitro*-diagnostiska produkter, endast avsedda för professionellt bruk. De ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, som iakttar godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Mediumbasen och supplementet ska användas tillsammans i enlighet med beskrivna anvisningar. Tillämpa god tillverkningssed vid beredningen av rörmedier.
- Dehydrerade medier och supplement måste hanteras med lämpligt skydd. Konsultera säkerhetsdatabladet före användning.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Ureasupplementet steriliseras genom membranfiltrering.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar såsom mediepulver och supplement eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera oanvänt medium och supplement samt de inokulerade plattorna med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet och supplementet som aktiva ingredienser i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett för konsumtion av människor och djur.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- Meddela Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) och berörda myndigheter om allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostiken.
- Informationen i detta dokument har definierats efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten men utan förpliktelse eller ansvar. I alla fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som tagits från mänskliga och djuriska organ, miljöprover och produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att våra produkter är lämpliga för det avsedda ändamålet.





15 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Dehydrerat medium: förvaras vid mottagandet vid 10–30 °C, skyddat från direkt ljus på en torr plats. Vid korrekt förvaring kan produkten användas fram till utgångsdatum. Använd inte produkten efter detta datum. Undvik att öppna flaskan på fuktiga platser. Efter användning måste behållaren stängas ordentligt. Kassera produkten om behållaren och/eller locket är skadade, eller om behållaren inte är väl tillsluten, eller vid uppenbar försämring av pulvret (färgförändringar, hårdning, stora klumpar).

Ureasupplement: Förvara produkten i originalförpackningen vid +2 °C /+8 °C och skyddad från direkt ljus. Om produkten förvaras på rätt sätt kan den användas fram till utgångsdatumet som anges på etiketten. Använd inte produkten efter detta datum. När flaskan har öppnats ska lösningen användas omedelbart. Innan användning ska produkt en kontrolleras och produkten kasseras om det finns tydliga tecken på försämring (t.ex. kontaminering, onormal färg eller andra onormala egenskaper).

Användaren ansvarar för tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för beredda medier och valideringen av deras hållbarhetstid, i enlighet med den tillämpade förvaringsmetoden (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

1. Rustigian R, Stuart A. Decomposition of urea by *Proteus*. Proc Soc Exp Biol Med. 1941; 47:108-112
2. Public Health England. UK Standards for Microbiology Investigations. Urease test. TP 36, Issue n° 4, 04/2019
3. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	LOT Batch-kod	IVD Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> ...	Tillverkare	Den här ...	Förvaras torrt
Temperaturbegränsning	Innehållet räcker till <n> tester	Se bruksanvisningen	Använd senast	Ömtåligt	Förvara skyddat från direkt ljus

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringarna	Datum
Revidering 1	Uppdaterad layout och innehåll	2022/02
Revidering 2	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/04

Anmärkning: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar inkluderas inte i granskningshistoriken.

