



## UREA BROTH

Terreno di coltura pronto per l'uso in provetta



Urea Broth – da sinistra: provetta non inoculata, *P. vulgaris*, *E. coli*

### DESTINAZIONE D'USO

Terreno per la determinazione dell'enzima ureasi, quale ausilio per la differenziazione dei membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae*.

### FORMULA TIPICA \*

Estratto di lievito	0,10 g
Potassio fosfato monobasico	9,10 g
Sodio fosfato bibasico	9,50 g
Rosso fenolo	0,01 g
Urea	20,00 g
Acqua purificata	1000 mL

\* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche

### DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Urea Broth, preparato in accordo alla formulazione di Rustigian e Stuart, è un terreno per la determinazione dell'enzima ureasi (urea amidoidrolasi), quale ausilio per la differenziazione dei membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae*, soprattutto per differenziare *Proteus* spp. (ureasi positive) da *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. (ureasi negative) e da altri enterobatteri che idrolizzano lentamente l'urea e risultano negativi su questo terreno.

L'estratto di lievito a basse concentrazioni (0,01%) fornisce gli elementi essenziali richiesti per la crescita dei ceppi di *Proteus* fortemente produttori di ureasi e che utilizzano gli ioni ammonio prodotti dall'idrolisi dell'urea come unica fonte di azoto; gli enterobatteri che idrolizzano lentamente l'urea possono fare affidamento per la crescita solo sulla limitata concentrazione di estratto di lievito e quindi risultano negativi al test dell'urea su questo terreno. Inoltre il forte sistema tampone tende a ridurre le variazioni di pH in presenza di bassi livelli di produzione di ioni ammonio.

L'urea, addizionata al terreno di base, è idrolizzata dai microrganismi con la formazione di ioni ammonio e conseguente reazione alcalina nel terreno e viraggio al rosso-viola dell'indicatore di pH rosso fenolo.

### CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in provetta  
pH (20-25 °C)

rosa-arancio, limpido.  
6,8 ± 0,2

### MATERIALI FORNITI

Provette di vetro con tappo a vite pronte all'uso contenenti 6 ml di Urea Broth.

### MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, anse da microbiologia, reagenti e terreni di coltura accessori.

### CAMPIONI

Il campione è costituito da colture pure di batteri isolati da campioni clinici o altri materiali

### PROCEDURA DELL'ANALISI

Inoculare pesantemente il brodo con tre ansate di crescita batterica in coltura pura del ceppo in esame ottenuta su TSI o altro terreno appropriato. Agitare lievemente il brodo per sospendere bene l'inoculo. Incubare a 35-37 °C in bagnomaria o termostato ed osservare il viraggio del colore del terreno al rosso-viola dopo 2, 4, 6, 18, 24, 48 ore.

### LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare il colore del terreno. Il test positivo (idrolisi dell'urea) è indicato da un intenso sviluppo di colore rosso-viola nel brodo.

Il test dell'ureasi risulta positivo su Urea Broth (Stuart) per *Proteus* spp., per *Providencia rettgeri* e per i ceppi ureasi positivi di *Providencia stuartii*. *M. morgani* può richiedere fino a 36 ore di incubazione per evidenziare il viraggio al rosso-viola del terreno.

Una volta che il test è stato registrato come positivo, eliminare le provette senza prolungare l'incubazione.

Il test negativo (nessuna idrolisi dell'urea) è indicato dall'assenza di viraggio al rosso-viola del terreno.

Per l'elenco delle specie ureasi positive fare riferimento al testo di Ewing citato in bibliografia o ad altra letteratura pertinente.

L'identificazione completa dei microrganismi coltivati sul terreno deve essere effettuata con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa, dopo purificazione delle colonie con subcoltura su terreno appropriato.

**CONTROLLO QUALITA'**

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. E' comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

Controllo ureasi positivo: *P.vulgaris* ATCC 9484

Controllo ureasi negativo: *E.coli* ATCC 25922

Incubazione a 37°C per 24 h

ATCC è un marchio registrate di American Type Culture Collection

**LIMITI DEL METODO**

- Il test dell'urea è basato sulla alcalinizzazione del terreno di coltura e quindi non è specifico per l'enzima ureasi. L'utilizzo dei peptoni, per esempio da parte di *Pseudomonas aeruginosa*, induce un aumento del pH e può portare a falsi positivi. Per questa ragione è consigliabile inoculare con il medesimo ceppo in esame anche una provetta con il terreno non adizionato di urea.
- *Proteus* spp. inducono una alcalinizzazione rapida del terreno. *P. vulgaris* e *P.mirabilis* risultano positivi dopo circa 8 ore di incubazione, *P.rettgeri* dopo circa 12 ore; *M. morgani* può richiedere fino a 36 ore di incubazione e se vi fossero dubbi interpretativi comparare il colore con una provetta non inoculata o incubare per ulteriori 24 ore.
- I ceppi lentamente e debolmente ureasi positivi, a causa della bassa concentrazione di estratto di lievito e di un sistema tampone energetico, appaiono come negativi all'ureasi su Urea Broth (Stuart).
- Il viraggio al rosso-viola si realizza quando il pH è superiore a 8,1; l'inoculo influenza in modo significativo il tempo richiesto dal ceppo batterico per sviluppare tali valori di alcalinità e quindi una reazione positiva.
- La velocità di reazione dell'ureasi è influenzata anche dal volume del terreno liquido in provetta; Stuart e coll. riportano che con volumi crescenti di 1,5 ml, 3 ml, 4,5 ml, 6 ml, a parità di inoculo, crescono i tempi dello sviluppo della reazione positiva e che il volume minimo per il test è 1,5 ml.
- Le provette di Urea Broth non sono idonee per una valutazione quantitativa dell'idrolisi dell'urea.
- Il terreno qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

**PRECAUZIONI ED AVVERTENZE**

- Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.
- Il prodotto qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale. Esso deve essere usato in Laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni poiché le colture microbiche e le provette seminate sono da considerare come potenzialmente infettive.
- La singola provetta del prodotto qui descritto è monouso.
- Il prodotto qui descritto è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave ma, non essendo sottoposto a test di sterilità con metodo normato, non è etichettato come "sterile" e deve essere quindi inteso come prodotto a biocontaminazione controllata e nei limiti di specifiche definite.
- Prima dell'utilizzo verificare l'integrità del tappo a vite.
- Non utilizzare le provette oltre la data di scadenza. Non utilizzare le provette se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, colore alterato).
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- Sterilizzare le provette dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le provette non utilizzate e quelli inoculate con i campioni o con i ceppi microbici in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).

**CONSERVAZIONE**

Conservare a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta.

**BIBLIOGRAFIA**

- Ewing. 1985. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co, Inc., New York, N.Y
- Mac Faddin, J.F. (1985) Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.
- Rustigian, R., Stuart C.A. (1941) - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 47, 108.
- Stuart, C.A., Von Stratum, E. and Rustigian R. (1945) - J. Bact. 48, 437.

**CONFEZIONE**

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Urea Broth	Terreno pronto all'uso in provetta di vetro 17x125 mm, con fondo piatto e tappo a vite.	552180	20 provette da 6 mL, in scatola di cartone

CODICE CND: W0104010206

RDM: 1514995/R



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.