

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DA QUALIDADE

I INTRODUÇÃO

O Rapid Urea Broth (Meio líquido de ureia rápido) é utilizado para a identificação presuntiva de *Helicobacter pylori* em amostras obtidas por biópsia do antro gástrico.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Inocule directamente a partir de uma cultura de reserva fresca crescida em **Trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood** (Agar de Soja **Trypticase** com 5% de Sangue de Ovelha).
 - b. Incube os frascos com as tampas desapertadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h, numa atmosfera aeróbia.
2. Examine os frascos em intervalos de 1, 4 e 24 h, verificando se ocorreu alguma alteração de cor do meio líquido.
3. Resultados esperados

Organismos	ATCC	Cor do meio líquido
<i>Campylobacter coli</i>	834	Sem reacção ao vestígio cor-de-rosa às 24 h
<i>Campylobacter jejuni</i>	29428	Sem reacção às 24 h (amarelo-alaranjado claro)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Sem reacção às 24 h (amarelo-alaranjado claro)
* <i>Helicobacter pylori</i>	43504	Vermelho médio a vermelho rosado no prazo de 4 h
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33495	Sem reacção às 4 h, vestígio cor-de-rosa a vermelho médio às 24 h
<i>Proteus vulgaris</i>	8427	Vermelho rosado às 24 h

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os frascos, conforme descrito em "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os frascos representativos para se certificar de que quaisquer defeitos físicos existentes não irão interferir com a utilização.
3. Determine o pH, através de potenciometria, à temperatura ambiente, para cumprimento da especificação de pH de $6,8 \pm 0,2$.
4. Incube os frascos representativos não inoculadas a $33 - 37^\circ\text{C}$ e $20 - 25^\circ\text{C}$ durante 72 h e examine-os, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÃO SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PREVISTA

O Rapid Urea Broth (Meio líquido de ureia rápido) é utilizado para a identificação presuntiva de *Helicobacter pylori* em amostras obtidas por biópsia do antro gástrico.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

A presença de pequenos bacilos curvos em forma de S em amostras obtidas por biópsia do antro foi descrita pela primeira vez por Warren e Marshall em 1983.¹ Posteriormente, outros investigadores observaram a existência de uma associação entre este microrganismo, agora conhecido como *Helicobacter pylori*, e a gastrite.²⁻⁴ No entanto, o isolamento e a identificação do microrganismo em meios primários pode necessitar de um período de até 7 dias, atrasando o tratamento.⁵

McNulty desenvolveu um teste de diagnóstico rápido para a gastrite associada a *Helicobacter*. Ao observar que a hidrólise rápida da ureia é característica de *H. pylori*, colocou amostras de biópsias em meio líquido de ureia Christensen a 2%, tendo observado uma alteração da cor. Dependendo do número de microrganismos presente na amostra, podem observar-se resultados positivos em menos de 1 h.⁶

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A enzima urease cataliza a hidrólise da ureia em iões amónio e bicarbonato. Devido ao facto de a urease não ser uma enzima humana, a sua actividade na mucosa gástrica deve-se principalmente à presença de *H. pylori*.⁷ A enzima urease pré-formada presente nas amostras obtidas por biópsia torna o meio líquido de ureia alcalino, alterando o indicador vermelho de fenol para uma cor rosa avermelhada.

VII REAGENTES

Rapid Urea Broth

Fórmula aproximada* por litro de água purificada

Hidrolisado pancreático de gelatina	1,0	g
Dextrose	1,0	g
Cloreto de sódio	5,0	g
Fosfato de potássio	2,0	g
Ureia	20,0	g
Vermelho de fenol.....	0,012	g

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

Advertências e Precauções: Para diagnóstico *in vitro*.

Os frascos que têm as tampas fechadas devem ser abertos com cuidado para evitar lesões provocadas pela quebra do vidro. Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"⁸⁻¹¹ e as linhas de orientação da instituição. Antes da eliminação, esterilizar em autoclave os recipientes das amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de Armazenamento: Após a recepção, armazenar os frascos em local escuro entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abra apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os frascos que forem armazenados conforme indicado no rótulo, até pouco antes de serem utilizados, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Antes da inoculação, deixar o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto: Não utilizar os frascos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, precipitação, evaporação ou outros sinais de deterioração.

VIII RECOLHA E MANIPULAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras colhidas por biópsia do antro podem ser colocadas directamente no Rapid Urea Broth, soro fisiológico estéril ou outro material adequado.^{12,13} As amostras devem ser colhidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material Fornecido: Rapid Urea Broth

Material Necessário Mas Não Fornecido: Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do Teste: Após a colheita, por biópsia do antro, a amostra deve ser imediatamente colocada em Rapid Urea Broth. Se a amostra for transportada para o laboratório em soro fisiológico, deve ser imediatamente transferida para Rapid Urea Broth. Coloque os frascos numa incubadora a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e observe-os, verificando se se desenvolve cor vermelha no prazo de 1 h. Caso seja negativo, continue a incubação e observe periodicamente até um período máximo de 4 h.

Controlo de Qualidade pelo Utilizador: Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Os requisitos de controlo da qualidade têm de ser realizados de acordo com os regulamentos ou as exigências de acreditação aplicáveis locais, estaduais e/ou federais [EUA] e os procedimentos de Controlo da Qualidade em vigor no laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as orientações do CLSI e os regulamentos da CLIA pertinentes sobre as práticas de controlo de qualidade apropriadas.

X RESULTADOS

A presença de urease é indicada por uma cor rosa avermelhada intensa em todo o meio líquido. Numa reacção negativa não ocorre alteração de cor, ou seja, o meio líquido permanece de cor amarela-alaranjada. Os resultados devem ser confirmados pela coloração de Gram e por repicagem para um meio apropriado, por exemplo, o meio Skirrows.^{7,12,13}

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Os meios de teste de ureia baseiam-se na demonstração de alcalinidade; por isso, não são específicos para a urease. A utilização de peptonas por microrganismos contaminantes ou a presença de outras proteínas no meio pode aumentar o pH para alcalino, devido à hidrólise das proteínas, e libertar resíduos de aminoácidos em excesso, resultando em reacções falsas positivas.^{14,15}

XII CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Antes de serem comercializados, todos os lotes de Rapid Urea Broth são testados para verificar as características específicas do produto. As amostras são inoculadas directamente com uma cultura nova de *Helicobacter pylori* ATCC 43504 e *Escherichia coli* ATCC 25922 cultivados em **Trypticase** Soy Agar with 5% Sheep Blood. Os frascos são incubados com as tampas desaperçadas, entre 35 e 37°C, numa atmosfera aeróbia. Com o *H. pylori* é observada uma reacção positiva (alteração de cor de amarelo-alaranjado para vermelho). Após 24 h, a *E. coli* produz uma reacção negativa (sem alteração de cor).

XIII APRESENTAÇÃO

Nº. de cat.	Descrição
298330	BD BBL Rapid Urea Broth, emb. de 10 frascos

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. McGechie, 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.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou 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 and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD