



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

L007521 • Rev. 11 • septiembre 2015



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD (Opcionales)

I. INTRODUCCION

El agar urea es un medio diferencial para organismos, en especial los miembros de la especie *Enterobacteriaceae*, según su capacidad de producir ureasa.

II. REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

A. Instrucciones para la preparación de un medio completo a partir de Urea Agar Base Concentrate 10X.

1. Para preparar el medio de agar de urea, añadir 1,7 g de agar granulado a 100 mL de agua purificada. Calentar agitando y hervir durante 1 minuto.
2. Dosificar en alícuotas de 9 mL en tubos y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
3. Enfriar el agar a 45 – 50 °C, y permitir que un tubo de concentrado llegue a temperatura ambiente. Añadir 1 mL de concentrado por cada 9 mL de solución de agar enfriado y mezclar bien.
4. Permitir que los tubos se enfríen en una posición inclinada, de manera que se formen agares inclinados con bases profundas.

B. Prueba del medio completo (agares urea inclinados)

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Con un asa calibrada de 0,01 mL, inocular las superficies del agar inclinado con gran cantidad de inóculos de cultivos de agar inclinado de soja **Trypticase** de 24 a 48 h. No inocular la base.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
2. Examinar los tubos después de 2, 4, 6 y 24 h en busca de crecimiento y reacciones.
3. Resultados previstos

Organismos de control (cepas ATCC) **Reacción de ureasa**

**Proteus vulgaris*..... + (Color de rosa rojo a rojo violeta intenso)

ATCC 8427

Morganella morganii subsp. *morganii*..... + (Color de rosa rojo a rojo violeta intenso)

ATCC 8019

**Salmonella enterica* subsp. *enterica*..... – (Sin cambio de color)

serotipo Typhimurium ATCC 13311

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

NOTA: Según CLSI M22-A3, no es necesario que el usuario realice un control de la calidad de este medio.

III. CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección “Deterioro del producto”.
2. Examinar visualmente los tubos representativos para asegurarse de que los 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 tubos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV. USO PREVISTO

El agar urea se utiliza para la diferenciación de organismos, en especial el grupo *Enterobacteriaceae*, según su producción de ureasa.

V. RESUMEN Y EXPLICACION

El agar urea fue diseñado por Christensen para su uso como medio sólido para la diferenciación de bacilos entéricos¹. Realiza la diferenciación entre organismos *Proteeae* rápidos positivos a la

ureasa (*Proteus* spp., *Morganella morganii* subsp. *morganii*, *Providencia rettgeri* y algunas *Providencia stuartii*) y otros organismos positivos a la ureasa: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y bacterias diferentes a la *Enterobacteriaceae*; es decir, algunas especies de *Bordetella* y *Brucella*².

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

VI. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El medio de urea de Rustigian y Stuart³ es particularmente adecuado para la diferenciación de la especie *Proteus* de otros bacilos entéricos gram negativos capaces de utilizar urea¹. Los últimos no tienen la capacidad mencionada en el caldo de prueba ureasa debido a la limitación de nutrientes y la alta capacidad tampón del medio. Para dar mayor utilidad al medio, Christensen¹ diseñó un agar urea con peptona y dextrosa incluidas y un menor contenido de tampón para favorecer un crecimiento más rápido de muchas *Enterobacteriaceae* y permitir una reducción en el tiempo de incubación.

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

Urea Agar Base Concentrate 10X

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de gelatina	10,0	g
Dextrosa	10,0	g
Cloruro sódico	50,0	g
Fosfato potásico	20,0	g
Urea	200,0	g
Rojo fenol	0,12	g

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

Urea Agar Slants, Complete

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de gelatina	1,0	g
Dextrosa	1,0	g
Cloruro sódico	5,0	g
Fosfato potásico	2,0	g
Urea	20,0	g
Rojo fenol	0,012	g
Agar	15,0	g

*Ajustada y/o suplementada según requisitos 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.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Antes de desecharlos, esterilizar en autoclave los tubos preparados, los recipientes para muestras y cualquier otro material contaminado.

221100 **BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X**, pqt. de 10 tubos de tamaño K

Atención



H315 Provoca irritación cutánea. **H319** Provoca irritación ocular grave.

P103 Leer la etiqueta antes del uso. **P264** Lavarse concienzudamente tras la manipulación.

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. **P305+P351+P338** EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. 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 utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII. RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{4,5}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX. PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Urea Agar Base Concentrate 10X o

Urea Agar Slants, Complete

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Cuando se utilice Urea Agar Base Concentrate 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.

Tomar un inóculo denso del crecimiento de un cultivo puro de 18 – 24 h (agar TSI u otro medio adecuado) y extenderlo en ambas direcciones sobre toda la superficie del agar inclinado. No insertar el inóculo en la base del agar inclinado, puesto que sirve como control de color. Incubar los tubos con las tapas aflojadas a una temperatura de 35 ± 2 °C en incubadora o baño María. Examinar las reacciones después de 2, 4, 6 y 24 h y luego diariamente por un total de 6 días. Es posible que se requieran períodos más prolongados de incubación.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

Cada lote de medios se ha probado con los microorganismos de control de calidad adecuados mediante una prueba que cumple las especificaciones del producto y los criterios aplicables del CLSI. Como siempre, las pruebas de control de calidad se deben llevar a cabo conforme a la normativa local, estatal, federal o nacional aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y/o a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

X. RESULTADOS

La producción de ureasa se indica por un color rosa rojo (rojo violeta) intenso en todo el agar inclinado. El color puede penetrar en el agar (base del tubo); la extensión del color indica la velocidad de la hidrólisis de urea⁶.

Una reacción negativa no produce un cambio de color; el medio de agar mantiene un color de amarillo pálido a beige.

Para obtener una lista de organismos positivos a la producción de ureasa, consultar los textos correspondientes^{5,7,8}.

XI. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. 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, especialmente en agar inclinado (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 falsas².

2. En agar urea, los organismos *Proteeae* positivos a la ureasa hacen el medio alcalino rápidamente después de la inoculación. Para que los resultados sean válidos para la detección de *Proteeae*, se debe efectuar la lectura de los resultados durante las primeras 6 horas de incubación. *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* pueden presentar reacciones positivas dentro de las 24 – 48 h².
3. Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados^{4,5,7}.

XII. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Kantor et al. desarrollaron un esquema rápido y simplificado, utilizando un mínimo de tres y un máximo de siete pruebas, que podría utilizarse de manera sistemática en los laboratorios para identificar bacterias gram negativas no fermentativas. Mediante este esquema se identificó un total de 229 organismos gram negativos no fermentativos desconocidos y 14 cepas de referencia. Se utilizó agar urea para diferenciar *Alcaligenes* sp. y *Pseudomonas alcaligenes* de *Bordetella bronchiseptica*⁹.

XIII. DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
221100	BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, pqt. de 10 tubos de tamaño K
221096	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, pqt. de 10 tubos de tamaño K
221097	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, caja de 100 tubos de tamaño K

XIV. BIBLIOGRAFÍA

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. Pfaller 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. Pfaller, 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.

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, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD