



BBL Urea Agar Base Concentrate 10X
BBL Urea Agar Slants, Complete
L007521 • Rev. 11 • Setembro 2015



PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O Ágar de ureia é um meio diferencial para membros da família *Enterobacteriaceae*, com base na sua capacidade para produzir urease.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

A. Instruções para preparação de um meio completo a partir do Urea Agar Base Concentrate 10X

1. Para preparar um meio de Ágar de ureia, adicione 1,7 g de ágar granulado a 100 mL de água purificada. Aqueça com agitação e ferva durante 1 min.
2. Distribua alíquotas de 9 mL em tubos e esterilize em autoclave a 121°C durante 15 min.
3. Arrefeça o ágar até 45 a 50°C e deixe um dos tubos de concentrado atingir a temperatura ambiente. Adicione 1 mL de concentrado a cada uma das soluções de ágar com 9 mL arrefecidas e misture completamente.
4. Deixe os tubos arrefecerem em posição inclinada, de forma que o fundo do ágar inclinado seja profundo.

B. Teste do meio completo (Urea Agar Slants)

1. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.
 - a. Com uma ansa calibrada de 0,01 mL, inocule as superfícies do ágar inclinado com inóculos concentrados, utilizando culturas em Ágar inclinado de soja **Trypticase** com 24 a 48 h. Não inocule o fundo.
 - b. Incube os tubos com as tampas pouco apertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ numa atmosfera aeróbia.
2. Examine os tubos após 2, 4, 6 e 24 h, verificando se existe crescimento e ocorrência de reacções.

3. Resultados esperados

Microrganismos de controlo (Estirpes ATCC) **Reacção da urease**

**Proteus vulgaris*
ATCC 8427 + (Cor-de-rosa avermelhado intenso a violeta avermelhado)

Morganella morganii subespécie *morganii*
ATCC 8019 + (Cor-de-rosa avermelhado intenso a violeta avermelhado)

**Salmonella enterica* subespécie
enterica serótipo Typhimurium
ATCC 13311 – (Sem alteração de cor)

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

NOTA: Este meio está isento de testes de CQ do utilizador, em conformidade com CLSI M22-A3.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos, conforme descrito na secção "Deterioração do produto".
2. Examine visualmente os tubos representativos, para assegurar que eventuais defeitos físicos 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 tubos representativos não inoculados entre 20 a 25°C e 30 a 35°C, e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Ágar de ureia é utilizado para diferenciação de microrganismos, especialmente *Enterobacteriaceae*, com base na produção de urease.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

O Ágar de ureia foi criado por Christensen para ser utilizado como um meio sólido para diferenciação de bacilos entéricos.¹ Diferencia microrganismos *Proteeae* urease-positivos rápidos (espécies de *Proteus*, *Morganella morganii* subespécie *morganii*, *Providencia rettgeri* e algumas

estirpes de *Providencia stuartii*) de outros microrganismos urease-positivos: *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* e de outras bactérias não *Enterobacteriaceae*, por exemplo, algumas espécies de *Bordetella* e *Brucella*.²

A base é igualmente fornecida como uma solução esterilizada por filtração concentrada 10X em tubos para utilização na preparação de Ágar inclinado de ureia no laboratório do utilizador.

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O meio de ureia de Rustigian e Stuart³ é particularmente adequado para a diferenciação de espécies de *Proteus* de outros bacilos entéricos Gram-negativos com capacidade para utilizarem a ureia;¹ estes últimos são incapazes de o fazer no Urease Test Broth devido à quantidade limitada de nutrientes e à elevada capacidade de tamponamento do meio. Para proporcionar um meio com maior utilidade, Christensen¹ criou o Ágar de ureia com inclusão de peptona e dextrose e um teor de tampão reduzido, para promover o rápido crescimento de muitas *Enterobacteriaceae* e permitir uma redução do tempo de incubação.

Quando os microrganismos utilizam ureia, forma-se amónia durante a incubação, o que torna os meios alcalinos, produzindo uma cor rosa avermelhada. Consequentemente, a produção de urease pode ser detectada pela alteração do indicador vermelho de fenol.

VII REAGENTES

Urea Agar Base Concentrate 10X

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido pancreático de gelatina	10,0	g
Dextrose	10,0	g
Cloreto de sódio	50,0	g
Fosfato de potássio	20,0	g
Ureia	200,0	g
Vermelho de fenol	0,12	g

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

Urea Agar Slants, Complete

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Digerido 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
Ágar	15,0	g

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

Advertências e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos com tampas apertadas devem ser abertos com cuidado, para evitar lesões devido a quebra do vidro.

Cumprir as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos em todos os procedimentos. Antes de serem eliminados, esterilizar em autoclave os tubos preparados, os recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

221100 **BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X**, emb. com 10 tubos K

Atenção



H315 Provoca irritação cutânea. **H319** Provoca irritação ocular grave.

P103 Ler o rótulo antes da utilização. **P264** Lavar cuidadosamente após manuseamento.

P280 Usar luvas de protecção/roupa de protecção/protecção ocular/protecção facial.

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazenar os tubos em local escuro entre 2 e 8°C. Evitar congelar ou aquecer excessivamente. Abrir apenas quando estiver pronto a utilizar. Os tubos com meio que forem armazenados conforme indicado no rótulo até ao momento imediatamente anterior à sua utilização, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante os períodos de incubação recomendados. Minimizar a exposição à luz.

Deterioração do produto

Não utilizar tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secagem ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{4,5} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Urea Agar Base Concentrate 10X ou

Urea Agar Slants, Complete

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Caso seja utilizado o Urea Agar Base Concentrate 10X, prepare o meio completo tal como é descrito na secção de Controlo de qualidade. Caso se tenham formado cristais no concentrado, estes dissolver-se-ão habitualmente à temperatura ambiente ou após alguns minutos em banho-maria a 40°C.

Utilizando um inóculo com elevada concentração obtido a partir de uma cultura pura com 18 a 24 h (Ágar TSI ou outro meio adequado), faça riscas, com movimentos para trás e para a frente, sobre toda a superfície do ágar inclinado. Não perfure o fundo, uma vez que serve como um controlo de cor. Incube os tubos com as tampas desapertadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, numa incubadora ou em banho-maria. Observe os tubos após 2, 4, 6 e 24 h e, a partir daí, diariamente até um total de 6 dias, verificando se existe alguma reacção. Poderão ser necessários períodos de incubação ainda mais prolongados.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Cada lote de meio foi testado com microrganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

X RESULTADOS

A produção de urease é indicada por uma cor rosa avermelhada (violeta avermelhada) intensa do ágar inclinado. A cor pode estender-se para o interior do ágar (fundo); a extensão da cor indica a taxa de hidrólise da ureia.⁶

Uma reacção negativa corresponde a uma ausência de alteração de cor; o meio de ágar permanece com cor amarelo-claro a castanho-amarelado.

Para obter uma listagem dos microrganismos urease-positivos, consulte os textos apropriados.^{5,7,8}

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. Estes meios de teste de ureia baseiam-se na demonstração de alcalinidade; por isso, não são específicos para a urease. A utilização de peptonas, especialmente no ágar inclinado (p. ex., pela *Pseudomonas aeruginosa*), ou de outras proteínas existentes no meio pode tornar o pH do meio alcalino devido à hidrólise de proteínas e libertação excessiva de aminoácidos, produzindo reacções falsas positivas.²

2. No Ágar de ureia, os *Proteeae* urease-positivos originam a alcalinização do meio pouco tempo após a inoculação. Para que a detecção de *Proteeae* seja válida, os resultados têm de ser lidos nas primeiras 6 h após a incubação. O *Citrobacter freundii* e a *Klebsiella pneumoniae* subespécie *pneumoniae* podem produzir reacções positivas num período de 24 a 48 h.²
3. Para a identificação, os microrganismos devem ser uma cultura pura. Para uma identificação final, devem ser efectuados testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.^{4,5,7}

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Utilizando um mínimo de três testes e um máximo de sete testes, Kantor et al. desenvolveram um esquema rápido e simplificado que pode ser utilizado rotineiramente pelos laboratórios para identificação de bactérias Gram-negativas não fermentadoras. Utilizando este esquema foi identificado um total de 229 microrganismos Gram-negativos não fermentadores. O Ágar de ureia foi utilizado para diferenciar espécies de *Alcaligenes* e *Pseudomonas alcaligenes* da *Bordetella bronchiseptica*.⁹

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

221100	BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X, emb. com 10 tubos K
221096	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, emb. com 10 tubos K
221097	BD BBL Urea Agar Slants, Complete, caixa com 100 tubos K

XIV BIBLIOGRAFIA

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.

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