

Finalidade:

Meio de cultura utilizado principalmente na diferenciação das espécies de na identificação bioquímica de microrganismos em geral, principalmente para diferenciação de *Proteus* e outras espécies de bacilos Gram negativos entéricos.

Registro ANVISA:

10097010135

Apresentação:

510012 - UREIA-AGAR-3mL-TB 13X100-CX 10TB
510070 - UREIA-CALDO-3mL-TB 13X100-CX 10TB

LB 172204
Rev. 06 – 08/2024

1. INTRODUÇÃO

Meio de cultura é utilizado principalmente na diferenciação de microrganismos, especialmente da família Enterobacteriaceae, com base na produção de urease. e na identificação bioquímica de microrganismos em geral, principalmente para diferenciação de *Proteus* spp. e outras espécies de bacilos gram negativos entéricos. Alguns BGN (Bacilos Gram Negativos) entre outras reações metabólicas promovem a hidrólise da ureia formando amônia. O meio contendo ureia está disponível na forma de meio sólido ou em caldo conforme a necessidade do usuário.

O ágar ureia foi criado por Christensen para ser usado como um meio sólido para a diferenciação de bacilos entéricos. Ele diferencia rapidamente entre microrganismos urease-positiva, Proteeae (*Proteus* spp, *Morganella morganii* subsp morganii, *Providencia rettgeri*, e alguns *Providencia stuartii*) e outros microrganismos urease-positiva: *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* e bactérias que não as Enterobacteriaceae, algumas *Bordetella* e *Brucella* spp. O teste de urease em caldo foi desenvolvido por Rustigian e Stuart, é utilizado para a identificação de bactérias em função da utilização de ureia e é recomendado particularmente para a diferenciação de membros do gênero *Proteus* de algumas *Salmonella* e *Shigella* no diagnóstico de infecções entéricas. O meio é positivo para *Proteus*, *Morganella morganii* subsp. morganii, *Providencia rettgeri*, e algumas estirpes de *Providencia stuartii* com a reclassificação dos membros da Proteeae.

O meio de ureia de Rustigian e Stuart é particularmente adequado para a diferenciação de espécies de *Proteus* de outros bacilos entéricos gram-negativos capazes de utilizar ureia, o último é incapaz de fazê-lo em teste de urease em caldo por causa dos limitados nutrientes e da alta capacidade de tamponamento do meio. Para fornecer um meio com maior utilidade, o ágar Ureia foi concebido por Christensen com peptona e dextrose incluídos e reduzido conteúdo de tampão para promover um crescimento mais rápido de muitas das Enterobacteriaceae e permitir uma redução no tempo de incubação.

2. COMPOSIÇÃO

Composição	Concentração/L
Digesto Pancreático de Gelatina	1,0g
Dextrose	1,0g
Cloreto de Sódio	5,0g

Fosfato de Potássio	2,0g
Ureia	20,0g
Vermelho de fenol	12,0mg
Ágar	15g
Água	1L

A formulação pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho do produto.

3. AMOSTRA

a- Tipos de amostras

- Amostras de cultura recente (18-24h) de BGN.
- O laboratório deve estabelecer critérios de coleta, rejeição e conservação das amostras, conforme sua política da qualidade.
- Sempre considerar as necessidades específicas dos microrganismos alvos das análises, microrganismos com necessidades especiais (suplementos específicos ou ambiente controlados) podem não apresentar crescimento adequado se semeados em meio de cultura que não apresente os requisitos mínimos.

4. INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE O PRODUTO

a- Princípio

Quando os microrganismos usam ureia, a amônia é formada durante incubação que torna a reação destes meios alcalina, produzindo uma cor vermelho-rosa. Consequentemente, a produção de urease é detectada pela mudança no indicador vermelho de fenol.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório as placas devem ser armazenadas em temperatura de 2 a 12°C, condições em que se mantém estáveis até a data de vencimento expressa em rótulo, desde que isento de contaminação de qualquer natureza. O uso de refrigerador tipo *frost-free* não é recomendado para meios de cultura devido ao efeito desidratante deste tipo de equipamento.

Considerando que este produto é gelatinoso e sua composição pode apresentar até 80% de água, ao sofrer variações de temperatura (quente-frio ou frio-quente) todo meio de cultura pode gerar condensação, de pouco a muita, acumulando água na placa. Recomenda-se guardar as placas com os meios de cultura virados para cima e, quando necessário, desprezar a água acumulada e deixar o meio de cultura estabilizar a temperatura antes de sua utilização.

Conforme descrito em literatura, o laboratório deve retirar da refrigeração apenas a quantidade de produto que deverá ser utilizada em sua rotina e deixar estabilizar a temperatura, ou secar a água condensada, antes de sua utilização, em temperatura ambiente, podendo utilizar a incubação em estufa ($\pm 37^{\circ}\text{C}$) para redução do tempo de secagem ou estabilização. A repetição do processo de refrigeração/estabilização não é recomendada, a constante troca de temperatura pode levar a desidratação do meio, expor o produto a contaminações ou gerar um acúmulo de água excessivo.

A água acumulada por condensação, ocasionada por alguma variação de temperatura, não influencia no desempenho do produto, desde que este não apresente ressecamento ou diminuição de espessura.

Devido a presença de substratos sensíveis, recomenda-se manter o produto protegido de incidência direta de luz (natural ou artificial) e evitar grandes variações de temperatura até a utilização.

c- Precauções e cuidados especiais

- O produto é destinado apenas para o uso diagnóstico *in vitro*;
- Uso restrito por profissionais;
- Mesmo se tratando de produto livre de agentes infecciosos, recomenda-se tratar este produto como potencialmente infeccioso, observando o uso de equipamentos de proteção individual e coletivo;
- Não inalar ou ingerir;
- Não utilizar placas com sinais de contaminação, ressecamento ou com alterações de cor ou espessura;
- Não usar materiais com o prazo de validade expirado, ou que apresentem selo de qualidade rompido ou violado;
- Recomenda-se a leitura da diretriz aprovada para "Proteção de Trabalhadores de Laboratório e Infecções Obtidas no Trabalho - CLSI® M29-A" para o manuseio seguro;
- Para acondicionamento e descarte do material usado, autoclavar a 121°C por 20 minutos. Recomendamos o uso dos sacos DetriLab.
- Os procedimentos de manuseio referentes ao processamento e manuseio para o descarte deverá estar de acordo com a RDC 222, de 28 DE MARÇO DE 2018 que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Alças bacteriológicas;
- Bico de Bunsen.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- a- Retirar o pacote da refrigeração e, em ambiente asséptico, separar os tubos de caldo ou ágar a serem usados, devolvendo o restante ao refrigerador;
- b- Colocar os tubos em estufa bacteriológica entre $35-37^{\circ}\text{C}$ pelo tempo necessário para adquirirem esta temperatura, ou deixar estabilizar/secar em temperatura ambiente;
- c- Usando procedimentos adequados, proceder a inoculação do material diretamente na superfície do meio;
- d- Fechar o tubo e incubar em estufa bacteriológica a $35-37^{\circ}\text{C}$ por 18-24h;
- e- Analisar o resultado: verificando que houve crescimento (turvação no caldo e formação de colônias no meio sólido) observar a coloração do meio, pois caso este fique vermelho, caracteriza a hidrólise da ureia pela bactéria analisada, do contrário a cor do meio permanece inalterada.

7. RESULTADOS

Positivo: alteração do meio para cor de rosa, pink.
Negativo: sem alteração de cor do meio.

A) Diferentes graus de hidrólise da ureia podem ocorrer:

- Tubo inteiro cor pink.
- Superfície do tubo cor pink, base não muda de cor.
- Fracamente positivo: ápice cor pink, restante do tubo não muda de cor.
- Positivo rápido: 1 – 6 horas para *Proteus* spp.
- Positivo tardio: 24 horas a 6 dias ou mais tempo de incubação. Ex: algumas cepas de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Haemophilus*.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

Os riscos residuais existentes acerca dos resultados do UREIA AGAR:

- Uso de colônias isoladas em um período superior a 24 horas. A partir deste período, o metabolismo bacteriano pode ficar comprometido e a leitura de alguns parâmetros podem consequentemente ficar defasados ou até mesmo não ocorrer.
- Colônias recentes (inferior ao período de 18 horas) não se encontram com o metabolismo bem definido. Algumas provas podem não ocorrer.
- Deve-se evitar uma sobrecarga de inóculo.
- A leitura das provas deve ser realizada dentro de um período de 18 a 24 horas. Não exceder e não antecipar o período de leitura para não comprometer os resultados.
- Técnica de assepsia inadequada.
- Utilização de material vencido, contaminado ou em condições inadequadas.
- Contaminação cruzada por uso de acessórios não esterilizados corretamente ou ambiente não asséptico.
- Utilização de meios de cultura com aparência alterada.
- Não aguardar para que os materiais atinjam a temperatura ambiente no momento do uso.

9. CONTROLE DA QUALIDADE

- *Materiais necessários*

Cepas padrão: ATCC® (*American Type Culture Collection*) ou derivadas).

- Controle de qualidade recomendado:

Parâmetro	Resultado esperado	
Especificidade - <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Reação Negativa – sem alteração da coloração do meio	$33-37^{\circ}\text{C}$ 24h
Especificidade – <i>P. mirabilis</i> ATCC 25933	Reação Positiva – formação de coloração vermelha – rósea intensa	$33-37^{\circ}\text{C}$ 24h
Meios não inoculados	Caldo Ureia - Líquido translúcido, com coloração alaranjado a amarelo, livre de precipitados ou partículas visíveis. Ágar Ureia - Meio sólido com base inclinada levemente opaco com coloração alaranjado a amarelo, livre de precipitados ou partículas visíveis.	

- *Periodicidade*

Testar a cada novo lote recebido ou em periodicidade estabelecida pelo próprio laboratório.

- *Análise dos resultados*

As cepas inoculadas no material devem apresentar características de crescimento esperados. Caso se constate algum problema ou diferença, os resultados de amostras clínicas não devem ser liberados até que as causas tenham sido apuradas devidamente e os problemas constatados sanados.

10. GARANTIA DA QUALIDADE

A Laborclin obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário que:

- O usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;

- Os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente conforme calendário estabelecido pela empresa até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser obtidos no site www.laborclin.com.br. Em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, entrar em contato com o SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente através do telefone 0800-0410027 ou pelo e-mail sac@laborclin.com.br. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha da Laborclin serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.



Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31

Insc. Estadual 1370012926

Rua Casimiro de Abreu, 521

Pinhais/PR CEP 83.321-210

Telefone (41) 3661-9000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176

Serviço de Assessoria ao Cliente

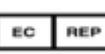
SAC 0800-0410027

sac@laborclin.com.br

11. REFERÊNCIAS

1. Difco Manual, 2nd ed., 2009
2. EWING. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co, Inc., New York, N.Y. 1985.
3. FARMER. In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1999.
4. HOLT, Krieg, Sneath, Staley and Williams (ed.). Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, Md. 1994.
5. KONEMAN, Elmer; *et al.* Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 6 ed., 2010.
6. MACFADDIN. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, Md. 2000.
7. MAHON, Connie, Manuseles, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995.
8. MURRAY, P.R. *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. American Society for Microbiology 1999.

ANEXO 1 – LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS NOS RÓTULOS

	Código do produto		Número de lote
	Número de série		Fabricante
	Consultar instruções para utilização		Validade
	Temperatura de armazenagem (limite de temperatura)		Produto para saúde para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Quantidade suficiente para <n> ensaios		Frágil, manusear com cuidado
	Esterilizado utilizando técnicas assépticas de processamento		Esterilização utilizando óxido de etileno
	Esterilização utilizando irradiação		Esterilizado utilizando vapor ou calor seco.
	Risco biológico		Cuidado. Importante consultar instruções de uso.
	Controle		Controle Negativo
	Controle Positivo		Manter seco
	Manter afastado da luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho
	Não utilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Terceira edição (24.08.2022)