



LYSINE IRON AGAR

Terreno di coltura pronto per l'uso in provetta



Lysine Iron Agar- da sinistra: provetta non inoculata, *S.flexneri*, *S.Arizonae*, *P.mirabilis*, *E.coli*

DESTINAZIONE D'USO

Terreno differenziale impiegato principalmente come ausilio nell'identificazione di alcuni membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae*, soprattutto *Salmonella*, isolati da campioni clinici e da altri materiali.

FORMULA TIPICA *

Peptone	5,00 g
Estratto di lievito	3,00 g
Glucosio	1,00 g
L-lisina	10,00 g
Fe-ammonio citrato	0,50 g
Sodio tiosolfato	0,04 g
Porpora di bromocresolo	0,02 g
Agar	15,00 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

Lysine Iron Agar, preparato in accordo alla formula di Edwards e Fife, è un terreno differenziale, indicato per l'identificazione dei ceppi di *Arizona* (*Salmonella enterica* subsp. *arizonae*) che fermentano rapidamente il lattosio e che su Triple Sugar Iron Agar appaiono come H₂S negativi e più in generale per distinguere gli enterobatteri in base alla produzione di idrogeno solforato, decarbossilazione e deaminazione della lisina.

Il peptone è una fonte di azoto per la crescita batterica, il glucosio è un carboidrato fermentabile; il porpora di bromo cresolo è un indicatore di pH, di colore giallo a pH inferiore a 5,2 e di colore porpora a pH superiore a pH 6,8; Il ferro ammonio citrato ed il sodio e tiosolfato costituiscono il sistema indicatore per la formazione e la rilevazione di idrogeno solforato; la lisina è decarbossilata a cadaverina con una reazione alcalina o neutra sul fondo del terreno ed è deaminata ad acido α -chetocarbossilico che, reagendo con i sali di ferro ed in presenza del porpora di bromo cresolo, sviluppa una colorazione rossa sul becco del clarino, al di sopra di un fondo acido.

All'interno delle *Enterobacteriaceae*, *Salmonella*, con la sola eccezione del ser. Paratyphi A, è il solo genere che decarbossila rapidamente la lisina e che produce idrogeno solforato: su Lysine Iron Agar queste due caratteristiche sono ben evidenziabili sia per i ceppi fermentanti il lattosio che per i ceppi non fermentanti il lattosio.

CARATTERISTICHE DEL TERRENO

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

porpora, limpido.
6,7 \pm 0,1

MATERIALI FORNITI

Provette di vetro con tappo a vite pronte all'uso contenenti il terreno di coltura Lysine Iron Agar a becco di clarino.

MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

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

CAMPIONI

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

PROCEDURA DELL'ANALISI

Caricare un ago da batteriologia con la crescita di una colonia pura del microrganismo da identificare. Sottoporre ad esame numerose colonie coltivate sulla piastra d'isolamento primario. Se si ritiene che le colonie non siano pure ritrapiantarle su Tryptic Soy Agar ed con esse seminare le provette di Lysine Iron Agar.

Seminare infiggendo fino sul fondo del terreno e strisciando abbondantemente sulla superficie del becco di clarino. Incubare a 35-37°C per 24-48 ore con i tappi allentati.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare e riportare i colori del becco di clarino, del fondo e la formazione del precipitato nero.

- Le colture lisina decarbossilasi positive inducono una reazione alcalina che si traduce in un colore porpora del terreno in provetta.
- I microrganismi lisina decarbossilasi negative formano un becco alcalino ed un fondo acido (colore giallo).



- I microrganismi che producono idrogeno solforato provocano un esteso annerimento del terreno.
- Le colture lisina deaminasi positive (es. *Proteus* e *Providencia*) danno reazione alcalina (colore rosso) sul becco del clarino, al di sopra di un fondo acido (colore giallo)

Nella tabella sottostante, sono indicate le reazioni caratteristiche attese di alcuni enterobatteri su Lysine Iron Agar.

Microrganismo	Becco	Fondo	H ₂ S
<i>Escherichia</i>	K	K o N	-
<i>Salmonella spp.</i>	K	K	+
<i>Salmonella enterica subsp. arizonae</i>	K	K o N	+
<i>Salmonella enterica ser. Paratyphi A</i>	K	A	-
<i>Shigella</i>	K	A	-
<i>Citrobacter</i>	K	A	+
<i>Proteus</i>	R	A	-
<i>Providencia</i>	R	A	-
<i>Klebsiella</i>	K	K	-

Legenda

K = Reazione alcalina, colorazione rosso-porpora; A = Reazione acida, colorazione gialla; R = Reazione rossa (deaminazione della lisina); N = Nessuna reazione; + = Carattere presente; - = Carattere assente

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.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° t / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>E.coli</i> ATCC 25922	37°C / 24H / A	crescita, becco e fondo porpora, H ₂ S -
<i>S.Typhimurium</i> ATCC 14028	37°C / 24H / A	crescita, becco e fondo porpora, H ₂ S +
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	37°C / 24H / A	crescita, becco rosso, fondo giallo, H ₂ S -
<i>S.flexneri</i> ATCC 12022	37°C / 24H / A	crescita, becco porpora, fondo acido, H ₂ S -

Incubazione con tappi allentati.

ATCC è un marchio registrate di American Type Culture Collection

LIMITI DEL METODO

- E' necessario inoculare per infissione il terreno senza rompere l'agar; usare aghi da batteriologia e non usare anse.
- Le specie di *Proteus* H₂S positive non sviluppano la colorazione nera su Lysine Iron Agar.
- La reazione rossa sul becco di *M.morganii* può essere variabile dopo 24 ore di incubazione; di norma richiede un tempo di incubazione più lungo.
- Il test su Lysine Iron Agar non è sostitutivo della prova di decarbossilazione della lisina su terreno Moeller Decarboxylase Medium.
- *Salmonella enterica ser. Paratyphi A* non decarbossila la lisina e le reazioni sono: K/A, H₂S -
- Su Lysine Iron Agar, la produzione di gas è di norma irregolare o soppressa, con la sola eccezione di *Citrobacter*.
- Questo terreno non deve essere usato per la semina diretta del campione.
- 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.
- 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.

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.
- Il prodotto qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* sugli animali e quelli durante il processo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto qui descritto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alla TSE.
- 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 produttore non si assume responsabilità di eventuali trasferimenti/suddivisioni del prodotto in altri contenitori.



- Il prodotto qui descritto è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave ma, non essendo sottoposto a test di sterilità con metodo normato, non é 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.

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

- Edwards, P.R. and Fife Marg. A. (1961) - App. Microbiol., 9, 478-480.
- Mac Faddin, J.F. (1985) Media for Isolation, Cultivation, Identification, Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.

CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Lysine Iron Agar	Terreno pronto all'uso in provetta di vetro 17x125 mm, con fondo piatto e tappo a vite.	551636	20 provette in scatola di cartone

CODICE CND: W0104010206

RDM: 1513991/R



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