



BBL Lysine Iron Agar Slants

L007465 • Rev. 09 • September 2014



MASSNAHMEN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

I EINFÜHRUNG

Lysin-Eisen-Agar ist ein Differenzierungsmedium, das zur Identifizierung von Enterobazillen dient.

II LEISTUNGSPRÜFUNG

1. Repräsentative Proben mit den nachstehend aufgeführten Kulturen inokulieren.
 - a. Zur Inokulation eine Inokulationsnadel bis zum Röhrchenboden eintauchen und anschließend die Proben an der Schräge entlang ausstreichen. 10^{-1} -Verdünnungen von 18 bis 24 h alten **Trypticase**-Soja-Bouillon-Kulturen der nachstehend aufgeführten Organismen verwenden.
 - b. Mit gelösten Verschlüssen in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.
2. Röhrchen nach 18 bis 24 h auf Wachstum und Reaktionen überprüfen.
3. Zu erwartende Ergebnisse

	Schräge	Röhrchenboden	H ₂ S
* <i>Salmonella enterica</i> Subspezies <i>arizonae</i> ATCC 13314	Alkalisch (violett)	Alkalisch (violett)	+
* <i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8454	Alkalisch (violett)	Sauer (gelb)	+ oder –
* <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 9484	Rot	Sauer (gelb)	–

* Empfohlener Organismusstamm für die Qualitätssicherung durch den Anwender.

III ZUSÄTZLICHE QUALITÄTSKONTROLLE

1. Röhrchen wie unter „Haltbarkeit des Produkts“ beschrieben begutachten.
2. Die repräsentativen Röhrchen auf sichtbare Beschädigungen prüfen, durch die ihre Verwendung beeinträchtigt werden könnte.
3. Repräsentative, nicht inokulierte Röhrchen bei 20 – 25 °C und bei 30 – 35 °C inkubieren und nach 7 Tagen auf mikrobielle Kontamination überprüfen.

PRODUKTINFORMATIONEN

IV VERWENDUNGSZWECK

Lysin-Eisen-Agar dient zur Differenzierung von Enteroorganismen auf der Grundlage ihrer Fähigkeit zur Lysin-Dekarboxylase bzw. Lysin-Deaminase sowie zur Bildung von Schwefelwasserstoff.

V ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Edwards und Fife entwickelten Lysin-Eisen-Agar zum Nachweis von *Arizona*-Kulturen (jetzt *Salmonella enterica* Subspezies *arizonae*), insbesondere jener Kulturen, die Lactose schnell fermentieren.¹ Diese Entwicklung folgte kurz nach der Veröffentlichung eines Klassifikationsschemas der *Enterobacteriaceae* durch Ewing und Edwards, in welchem die Primäreinteilung und Gruppen innerhalb dieser Familie definiert und deren Differenzierungsverfahren beschrieben wurden.² Die verschiedenen Kriterien zur Identifizierung der Kulturen wurden von Edwards und Ewing in deren wissenschaftlicher Abhandlung über die *Enterobacteriaceae* zusammengefasst.³ Die Klassifikation der *Enterobacteriaceae* hat sich jedoch in den letzten Jahren entscheidend verändert.^{4,6}

Johnson et al. verwendeten Lysin-Eisen-Agar und Kligler Eisen-Agar zur primären Differenzierung verschiedener Bakteriengruppen innerhalb der Familie der *Enterobacteriaceae* sowie eine Kombination aus Lysin-Eisen-Agar und Eisen-Schrägar mit verdreifachtem Zucker zur Identifizierung von *Salmonella*, *Shigella* und Organismen der *Arizona*-Gruppe im Stuhl.⁷

Lysin-Eisen-Agar unterstützt die Differenzierung von Enterobazillen auf der Grundlage von deren Fähigkeiten zur Lysin-Dekarboxylase bzw. Lysin-Deaminase sowie zur Bildung von Schwefelwasserstoff. Er ist zur Verwendung mit anderen Medien (z.B. Eisen-Schrägagar mit verdreifachtem Zucker) in den jeweiligen geeigneten Identifizierungsschemata vorgesehen.

VI VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Als fermentierbares Kohlehydrat wird Dextrose verwendet. Der pH-Indikator Bromkresolviolett schlägt bei einem pH-Wert von kleiner oder gleich 5,2 auf gelb um und ist bei einem pH-Wert von größer oder gleich 6,8 violett.⁸ Ammonium Eisen (III)-Citrat und Natriumthiosulfat dienen als Indikatoren für die Sulfidbildung. Lysin dient als Substrat zum Nachweis der Enzyme Lysin-Dekarboxylase und Lysin-Deaminase.

Schwefelwasserstoff produzierende Enterobazillenkulturen verursachen auf Grund der Bildung von Eisensulfiden eine Schwarzfärbung des Mediums. Lysin-Dekarboxylase produzierende Kulturen verursachen eine alkalische Reaktion (violett gefärbt) oder eine neutrale Reaktion im Medium am Röhrchenboden. Organismen, die Lysin deaminieren, führen zur Bildung einer roten Schräge über einem sauren Röhrchenboden. Gasbildung kann auftreten, tritt jedoch oftmals unregelmäßig auf oder wird unterdrückt.

VII REAGENZIEN

Lysin-Eisen-Agar

Ungefähre Zusammensetzung* pro L destilliertem destilliertes Wasser

Pankreatisch abgebaute Gelatine	5,0 g
Hefeextrakt	3,0 g
Dextrose	1,0 g
L-Lysin	10,0 g
Ammonium Eisen (III)-Citrat	0,5 g
Natriumthiosulfat	0,04 g
Bromkresolviolett	0,02 g
Agar	13,5 g

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Fest verschlossene Röhrchen sollten vorsichtig geöffnet werden, um Verletzungen durch Glasbruch zu vermeiden.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen und Anwendung aseptischer Techniken erfolgen. Vorbereitete Röhrchen, Probenbehälter und andere kontaminierte Materialien im Autoklav sterilisieren und erst dann entsorgen.

Aufbewahrung

Röhrchen nach Erhalt bei 2 – 8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nicht einfrieren oder überhitzen. Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen. Vor Lichteinwirkung schützen. Medien in Röhrchen, die vor Gebrauch gemäß der Anleitung auf dem Etikett gelagert werden, können bis zum Verfallsdatum inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden. Das Medium vor der Inokulation auf Raumtemperatur erwärmen lassen.

Haltbarkeit des Produkts

Röhrchen bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

VIII PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

Die Handhabung der für die Kultivierung geeigneten Proben kann auf verschiedene Arten geschehen. Detaillierte Informationen enthält die entsprechende Fachliteratur.^{9,10} Die Proben sollten vor der Verabreichung von Antibiotika entnommen werden. Für einen umgehenden Transport zum Labor ist zu sorgen.

IX VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Lysine Iron Agar Slants

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Qualitätskontrollorganismen und Laborgeräte nach Bedarf.

Testverfahren

Aseptische Kautelen beachten.

Eine Inkubationsnadel zweimal bis zum Röhrchenboden eintauchen und anschließend Bakterienwachstum einer Reinkultur auf der Schrägseite ausstreichen. Die Röhrchen mit gelösten Verschlüssen für 18 bis 48 Std. in einer aeroben Atmosphäre bei 35 ± 2 °C inkubieren.

Falls von dem Medium nicht schon Ergebnisse zur Differenzierung von Koliformen von z.B. *Shigella* vorliegen, sollten Eisen-Schrägagar mit verdreifachtem Zucker parallel inokuliert werden.

Qualitätskontrolle durch den Anwender

Siehe „Massnahmen zur Qualitätskontrolle“.

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder der Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie den Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Es wird empfohlen, die korrekten Qualitätskontrollverfahren den geltenden CLSI-Richtlinien und CLIA-Bestimmungen zu entnehmen.

X ERGEBNISSE

Lysin-Dekarboxylase wird durch eine alkalische (violette) Reaktion am Röhrchenboden nachgewiesen. Lysin-Deaminase kann durch eine rote Schrägseite festgestellt werden. Schwefelwasserstoffproduktion wird durch Bildung eines schwarzen Niederschlages festgestellt. Eine negative Reaktion (violette Schrägseite und gelber Röhrchenboden) zeigt an, dass nur Dextrose fermentiert wurde.⁸

Da die Säureproduktion im Medium am Röhrchenboden die Bildung von Schwefelwasserstoff u.U. unterdrückt, kann Schwefelwasserstoff in diesem Medium von Lysin-Dekarboxylaseaktivität-negativen Organismen u.U. nicht festgestellt werden. Daher verursachen H_2S produzierende *Proteus*-Spezies in diesem Medium keine Schwarzfärbung.⁸

Typische Reaktionen von Mitgliedern der *Enterobacteriaceae*:

	Schrägseite	Röhrchenboden	H_2S
Arizona-Gruppe	Alkalisch.....	Alkalisch.....	+ oder neutral
<i>Salmonella enterica</i>	Alkalisch.....	Sauer.....	-
Subspezies <i>enterica</i> Serotyp Paratyphi A			
Andere <i>Salmonella</i>	Alkalisch.....	Alkalisch.....	+
<i>Shigella</i>	Alkalisch.....	Sauer.....	-
<i>Citrobacter</i>	Alkalisch.....	Sauer.....	+ oder -
<i>Klebsiella</i>	Alkalisch.....	Alkalisch.....	-
	oder neutral	oder neutral	
<i>Escherichia</i>	Alkalisch.....	Alkalisch.....	-
		oder neutral*	
<i>Proteus</i>	Rot	Sauer.....	-
<i>Providencia</i>	Rot.....	Sauer.....	-

Erklärung: Alkalisch = violett • Sauer = gelb • Neutral = blaugrau

*Alkalische oder neutrale Reaktionen bedeuten Dekarboxylierung.

XI VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Zur Identifizierung müssen die Mikroorganismen in Reinkultur vorliegen. Für die endgültige Identifizierung sollten morphologische, biochemische und/oder serologische Tests durchgeführt werden. Detaillierte Informationen und empfohlene Verfahren sind der einschlägigen Fachliteratur zu entnehmen.^{5,9,10}

XII LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von Lysin-Eisen-Schrägagar auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge mit im Verhältnis 10^{-1} mit *Salmonella arizonae* (ATCC 13314), *Proteus vulgaris* (ATCC 9484) und *Citrobacter freundii* (ATCC 8454) verdünnten Kulturen

werden auf **Trypticase-Soja-Agar** oder **Trypticase-Soja-Bouillon** getestet, indem der Schrägagar ausgestrichen und die Inokulationsnadel bis zum Röhrchenboden eingetaucht wird. Die Röhrchen werden mit gelösten Verschlüssen bei $35 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubiert und nach 18 bis 24 h auf Wachstum und Reaktionen untersucht. Das Wachstum aller Organismen fällt mittel bis stark aus. *S. arizonae* dekarboxyliert Lysin, angezeigt durch eine alkalische Reaktion (violett) sowohl an der Schräge als auch am Röhrchenboden, und ist positiv für Schwefelwasserstoffbildung, angezeigt durch eine Schwarzfärbung des Mediums. *P. vulgaris* deaminiert Lysin, angezeigt durch eine rote Farbbildung an der Schräge bei saurem Röhrchenboden (gelb), und ist negativ für Schwefelwasserstoffbildung. *C. freundii* ist sowohl für Lysin-Deamination als auch Lysin-Dekarboxylase negativ, woraus eine alkalische Reaktion an der Schräge und eine saure Reaktion am Röhrchenboden (gelb) resultiert, die die Fermentierung von Dextrose anzeigen; Schwefelwasserstoff kann dabei gebildet werden oder nicht.

XIII LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
220952	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, Packung mit 10 Röhrchen der Größe K
220953	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe K
297700	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, Karton mit 100 Röhrchen der Größe D

XIV LITERATUR

1. Edwards, P.R., and M.A. Fife. 1961. Lysine-Iron Agar in the detection of *Arizona* cultures. Appl. Microbiol. 9:478-480.
2. Ewing, W.H., and P.R. Edwards. 1960. The principal divisions and groups of *Enterobacteriaceae* and their differentiation. Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 10:1-12.
3. Edwards, P.R., and W.H. Ewing. 1962. Identification of *Enterobacteriaceae*, Burgess Publishing Co., Minneapolis.
4. Ewing, W.H. 1986. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
5. 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.
6. 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.
7. Johnson, J.G., L.J. Kunz, W. Barron, and W.H. Ewing. 1966. Biochemical differentiation of the *Enterobacteriaceae* with the aid of Lysine-Iron-Agar. Appl. Microbiol. 14:212-217.
8. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
9. 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.
10. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder 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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.