



BBL Lysine Iron Agar Slants

L007465 • Rev. 09 • Septiembre 2014



PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I. INTRODUCCION

Lysine Iron Agar (agar lisina hierro) es un medio de diferenciación para uso en la identificación de bacilos entéricos.

II. REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Inocular las muestras insertando una aguja de inoculación en la base y extendiendo la muestra en el agar inclinado. Utilizar diluciones 10^{-1} de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 18 – 24 h de los organismos enumerados a continuación.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia.
2. Examinar si los tubos después de 24 h muestran indicios de crecimiento y reacciones.
3. Resultados previstos

	Agar inclinado	Base	H ₂ S
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> ATCC 13314	Alcalino (morado)	Alcalino (morado)	+
* <i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8454	Alcalino (morado)	Ácido (amarillo)	+ o –
* <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 9484	Rojo	Ácido (amarillo)	–

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

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. 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 lisina hierro se utiliza para la diferenciación de organismos entéricos basada en su capacidad de descarboxilación o desaminación de lisina y la formación de ácido sulfhídrico.

V. RESUMEN Y EXPLICACION

Edwards y Fife diseñaron el agar lisina hierro para la detección de los cultivos de *Arizona* (ahora *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*), en especial los que fermentan lactosa rápidamente¹. Este avance era una consecuencia directa de la declaración de Ewing y Edwards acerca de un esquema taxonómico para la especie *Enterobacteriaceae* en el que se definían la división principal y los grupos dentro de esta familia y se describían los procedimientos de diferenciación². Los diversos criterios para la identificación de cultivos fueron resumidos por Edwards y Ewing en su tratado acerca de *Enterobacteriaceae*³. Sin embargo, la taxonomía de *Enterobacteriaceae* ha variado drásticamente en los últimos años^{4,6}.

Johnson et al utilizaron agar lisina hierro y agar hierro de Kligler para la diferenciación primaria de diversos grupos de bacterias dentro de la familia de *Enterobacteriaceae* y una combinación de agar lisina hierro con agar triple azúcar hierro para la identificación de los organismos de los grupos *Salmonella*, *Shigella* y *Arizona* a partir de muestras fecales⁷.

Lysine Iron Agar favorece la diferenciación de bacilos entéricos según su capacidad de descarboxilación y desaminación de lisina y de producción de ácido sulfhídrico. Está diseñado para uso con otros medios (por ejemplo, agar triple azúcar hierro) en esquemas de identificación adecuados.

VI. PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La dextrosa sirve como fuente de carbohidratos fermentables. El indicador de pH, púrpura de bromocresol, cambia a color amarillo a un pH de 5,2 o inferior, y presenta color morado a un pH de 6,8 o superior⁸. El citrato férrico amónico y el tiosulfato sódico son indicadores de formación de ácido sulfhídrico. La lisina es el sustrato para uso en la detección de enzimas, lisina descarboxilasa y lisina deaminasa.

Los cultivos de bacilos entéricos que producen ácido sulfhídrico causan oscurecimiento del medio debido a la producción de sulfuro férrico. Los organismos que producen descarboxilación de lisina producen una reacción alcalina (color morado) o neutra en la base del medio. Los microorganismos que desaminan la lisina causan la formación de un agar rojo inclinado sobre una base ácida. Se puede generar gas, pero a menudo de manera irregular o reprimida.

VII. REACTIVOS

Lysine Iron Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de gelatina.....	5,0	g
Extracto de levadura	3,0	g
Dextrosa	1,0	g
L-Lisina	10,0	g
Citrato férrico de amonio	0,5	g
Tiosulfato sódico.....	0,04	g
Púrpura de bromocresol	0,02	g
Agar	13,5	g

*Ajustada y/o suplementada 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.

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. Reducir al mínimo la exposición a la luz. 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. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

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^{9,10}. 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

Lysine Iron Agar Slants

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.

Insertar una aguja de inoculación dos veces en la base, luego extender el crecimiento de un cultivo puro en el agar inclinado. Incubar los tubos con las tapas flojas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ en una atmósfera aerobia durante 18 – 48 h.

Los agares inclinados triple azúcar hierro deben inocularse en paralelo a menos que ya se hayan obtenido resultados de este medio para diferenciar los organismos coliformes de *Shigella*, por ejemplo.

Control de calidad del usuario

Véase “Procedimientos de control de calidad”.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X. RESULTADOS

La descarboxilación de lisina se detecta en la base mediante una reacción alcalina (color morado). La desaminación de lisina se detecta por un agar inclinado de color rojo. La producción de ácido sulfhídrico se detecta mediante la formación de precipitado de color negro. Una reacción negativa (agar inclinado de color morado y base amarilla) indica fermentación de dextrosa exclusivamente⁸.

Tal vez no se detecte ácido sulfhídrico en este medio por parte de organismos negativos a la actividad de descarboxilación de lisina, dado que la producción de ácido en la base puede suprimir su formación⁸. Por esta razón, la especie *Proteus* productora de H_2S no oscurece este medio⁸.

Las reacciones habituales de los miembros de *Enterobacteriaceae*:

	Agar inclinado	Base	H_2S
Grupo Arizona.....	Alcalino.....	Alcalino.....	+
		o neutra	
<i>Salmonella enterica</i>	Alcalino.....	Ácido.....	–
subsp. <i>enterica</i>			
serotipo Paratyphi A			
Otra <i>Salmonella</i>	Alcalino.....	Alcalino.....	+
<i>Shigella</i>	Alcalino.....	Ácido.....	–
<i>Citrobacter</i>	Alcalino.....	Ácido.....	+ o –
<i>Klebsiella</i>	Alcalino.....	Alcalino.....	–
	o neutro	o neutro	
<i>Escherichia</i>	Alcalino.....	Alcalino.....	–
		o neutro*	
<i>Proteus</i>	Rojo.....	Ácido.....	–
<i>Providencia</i>	Rojo.....	Ácido.....	–

Leyenda: Alcalino = color morado • Ácido = color amarillo • Neutro = color gris azulado

*Una reacción alcalina o neutra indica descarboxilación.

XI. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

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^{5,9,10}.

XII. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento, todos los lotes de Lysine Iron Agar Slants se someten a prueba para determinar sus características de rendimiento. Se analizan muestras representativas del lote con cultivos de agar de soja **Trypticase** o cultivos de caldo de soja **Trypticase** diluidos a 10^{-1} de *Salmonella arizonae* (ATCC 13314), *Proteus vulgaris* (ATCC 9484) y *Citrobacter freundii* (ATCC 8454), insertando con una aguja de inoculación en la base y extendiendo la muestra en el agar inclinado. Los tubos se incuban con las tapas aflojadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ y se efectúa la lectura después de 18 – 24 h para determinar el crecimiento y las reacciones. El crecimiento de todos los organismos es de moderado a denso. *S. arizonae* produce la descarboxilación de la lisina, lo que se indica con una reacción alcalina (color morado) en el agar inclinado y la base, y es positiva a la producción de ácido sulfhídrico, lo que se indica por un oscurecimiento del medio. *P. vulgaris*

produce la desaminación de la lisina, lo que se indica mediante una reacción de color rojo en el agar inclinado mientras que la base presenta una reacción ácida (color amarillo) y es negativa a la producción de ácido sulfhídrico. *C. freundii* da resultado negativo a la desaminación y la descarboxilación de la lisina, lo que da como resultado una reacción alcalina en el agar inclinado y una reacción ácida en la base (color amarillo), lo que indica fermentación de dextrosa y puede producir o no ácido sulfhídrico.

XIII. DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
220952	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, pqt. de 10 tubos de tamaño K
220953	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, caja de 100 tubos de tamaño K
297700	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, caja de 100 tubos de tamaño D

XIV. REFERENCIAS

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.

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, BBL, GasPak and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2014 BD.