



BBL Lysine Iron Agar Slants

L007465 • 09 • Septembre 2014



PROCEDURES DE CONTROLE DE QUALITE

I INTRODUCTION

La Lysine Iron Agar est un milieu différentiel utilisé pour l'identification des bacilles entériques.

II MODE OPERATOIRE DU TEST

1. Ensemencer des échantillons représentatifs avec les cultures répertoriées ci-dessous.
 - a. Ensemencer les échantillons à l'aide d'une aiguille à ensemencer en piquant le culot et en striant la pente. Utiliser des cultures **Trypticase** Soy Broth âgées de 18 à 24 h diluées au 1/10 des organismes ci-dessous.
 - b. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, en atmosphère aérobie, à une température de 35 ± 2 °C.
2. Examiner les tubes au bout de 18 à 24 h afin de contrôler la croissance et les réactions.
3. Résultats attendus

	Pente	Culot	H ₂ S
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> ATCC 13314	Alcalin (pourpre)	Alcalin (pourpre)	+
* <i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8454	Alcalin (pourpre)	Acide (jaune)	+ ou –
* <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 9484	Rouge	Acide (jaune)	–

*Souche recommandée pour le contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur.

III CONTROLE DE QUALITE SUPPLEMENTAIRE

1. Examiner les tubes comme décrit à la rubrique « Détérioration du produit ».
2. Inspecter visuellement des tubes représentatifs pour s'assurer qu'aucun défaut physique ne peut interférer avec leur utilisation.
3. Incuber des tubes représentatifs non ensemencés entre 20 et 25 °C et 30 et 35 °C, et les examiner après 7 jours pour déceler une contamination microbienne éventuelle.

INFORMATIONS PRODUIT

IV APPLICATION

La Lysine Iron Agar (gélose de fer et de lysine) est utilisée pour la différenciation des organismes entériques en fonction de leur capacité à décarboxyler ou à désaminer la lysine et à former de l'acide sulfhydrique.

V RESUME ET EXPLICATION

Edwards et Fife ont mis au point la Lysine Iron Agar afin de détecter les cultures Arizona (maintenant *Salmonella enterica* sous-espèce *arizonae*), et en particulier celles qui fermentent rapidement le lactose.¹ L'élaboration de cette gélose a suivi de peu la publication par Ewing et Edwards d'un schéma taxonomique des *Enterobacteriaceae* qui définissait la division et les groupes principaux constituant cette famille et décrivait les procédures de différenciation.² Les différents critères d'identification des cultures ont été présentés par Edwards et Ewing dans leur traité consacré aux *Enterobacteriaceae*.³ Néanmoins, la taxonomie des *Enterobacteriaceae* a considérablement évolué au cours des dernières années.^{4,6}

Johnson et al. ont utilisé la Lysine Iron Agar et la Kligler Iron Agar pour la différenciation primaire des groupes de bactéries existant au sein de la famille des *Enterobacteriaceae*, et une combinaison de Lysine Iron Agar et de Triple Sugar Iron Agar pour l'identification des organismes appartenant aux groupes des *Salmonella*, *Shigella* et *Arizona* dans les matières fécales.⁷

La Lysine Iron Agar facilite la différenciation des bacilles entériques en fonction de leur capacité à décarboxyler et à désaminer la lysine et à produire de l'acide sulfhydrique. Cette gélose est conçue

pour être utilisée avec d'autres milieux (gélose Triple Sugar Iron Agar, par exemple) dans le cadre de programmes d'identification appropriés.

VI PRINCIPES DE LA METHODE

Le dextrose tient lieu de source de glucides fermentescibles. L'indicateur de pH, le pourpre de bromocrésol, vire au jaune lorsque la valeur du pH est inférieure ou égale à 5,2 et devient pourpre lorsque le pH est supérieur ou égal à 6,8.⁸ Le citrate d'ammonium ferrique et le thiosulfate de sodium sont des indicateurs de la production d'acide sulfhydrique. La lysine est le substrat utilisé pour détecter les enzymes, la lysine décarboxylase et la lysine désaminase.

Les cultures de bacilles entériques qui produisent de l'acide sulfhydrique noircissent le milieu en raison de la production de sulfure de fer. Celles qui génèrent de la lysine décarboxylase produisent une réaction alcaline (couleur pourpre) ou une réaction neutre dans le culot du milieu. Les organismes qui désaminent la lysine génèrent le développement d'une pente rouge par-dessus un culot acide. La formation de gaz peut éventuellement se produire, mais elle est généralement irrégulière ou inhibée.

VII REACTIFS

Lysine Iron Agar

Formule approximative* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine	5,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Dextrose	1,0 g
L-lysine	10,0 g
Citrate d'ammonium ferrique	0,5 g
Thiosulphate de sodium.....	0,04 g
Pourpre de bromocrésol	0,02 g
Gélose.....	13,5 g

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

Avertissements et précautions

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Ouvrir avec précaution les tubes étroitement bouchés pour ne pas risquer d'être blessé par un bris de verre.

Toujours utiliser des techniques aseptiques et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Avant de les éliminer, stériliser à l'autoclave les tubes préparés, les récipients ayant contenu des échantillons et tout autre matériel contaminé.

Instructions pour la conservation

Dès réception, conserver les tubes dans l'obscurité, à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Ne pas ouvrir prématurément. Maintenir à l'abri de la lumière. Les milieux en tube conservés conformément aux instructions jusqu'au moment de leur utilisation peuvent être ensemencés jusqu'à la date de péremption indiquée et incubés pendant les durées recommandées. Laisser le milieu s'équilibrer à température ambiante avant de l'ensemencer.

Détérioration du produit

Ne pas utiliser les tubes s'ils présentent des signes de contamination microbienne, décoloration ou dessiccation, ou d'autres signes de détérioration.

VIII PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons adaptés à la mise en culture peuvent être manipulés selon différentes techniques. Pour plus d'informations, consulter les publications citées en référence.^{9,10} Prélever les échantillons avant l'administration des agents antimicrobiens. Veiller à les transmettre sans délai au laboratoire.

IX PROCEDURE

Matériaux fournis

Lysine Iron Agar Slants

Matériaux requis mais non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs, souches de contrôle de qualité et matériel de laboratoire requis.

Mode opératoire du test

Respecter les techniques d'asepsie.

Piquer deux fois le culot de la gélose à l'aide d'une aiguille d'ensemencement, puis strier la surface de la pente avec une croissance issue d'une culture pure. Incuber les cultures, avec les bouchons desserrés, pendant 18 à 48 h à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.

Des géloses inclinées de Triple Sugar Iron Agar doivent être ensemencées en même temps, sauf si l'on dispose déjà de résultats produits par ce milieu, par exemple à la suite de tests réalisés pour distinguer les coliformes des *Shigella*.

Contrôle de qualité par l'utilisateur

Voir « Procédures de contrôle de qualité ».

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

X RESULTATS

La décarboxylation de la lysine dans le culot est révélée par une réaction alcaline (pourpre). La désamination de la lysine est révélée par une pente rouge. La production d'acide sulfhydrique est révélée par la formation d'un précipité noir. Une réaction négative (pente pourpre et culot jaune) indique uniquement la fermentation de dextrose.⁸

Les organismes négatifs pour la lysine décarboxylase ne révèlent pas toujours la présence d'acide sulfhydrique dans ce milieu, car la production d'acide dans le culot risque d'en inhiber la formation.⁸ C'est la raison pour laquelle l'espèce *Proteus* productrice d'H₂S ne cause pas de noircissement de ce milieu.⁸

Les réactions types des *Enterobacteriaceae* sont les suivantes :

	Pente	Culot	H ₂ S
Groupe <i>Arizona</i>	Alcalin	Alcalin.....	+ ou neutre
<i>Salmonella enterica</i>	Alcalin.....	Acide.....	–
subsp. <i>enterica</i> sérotypage Paratyphi A			
Autres <i>Salmonella</i>	Alcalin.....	Alcalin.....	+
<i>Shigella</i>	Alcalin.....	Acide.....	–
<i>Citrobacter</i>	Alcalin.....	Acide.....	+ ou –
<i>Klebsiella</i>	Alcalin.....	Alcalin	–
	ou neutre	ou neutre	
<i>Escherichia</i>	Alcalin.....	Alcalin	–
		ou neutre*	
<i>Proteus</i>	Rouge	Acide.....	–
<i>Providencia</i>	Rouge	Acide.....	–

Légende : Alcalin = pourpre • Acide = jaune • Neutre = bleu-gris

*Une réaction alcaline ou neutre indique une décarboxylation.

XI LIMITES DE LA PROCEDURE

Pour procéder à l'identification, les organismes doivent se trouver en culture pure. Des tests morphologiques, biochimiques et/ou sérologiques doivent être effectués pour l'identification finale. Pour plus d'informations, et pour connaître les procédures recommandées, consulter les publications citées en référence.^{5,9,10}

XII CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Tous les lots de Lysine Iron Agar Slants sont soumis à des tests en usine permettant d'évaluer les caractéristiques de leurs performances. Des échantillons représentatifs du lot sont testés avec des cultures diluées à 10⁻¹ de gélose **Trypticase** Soy Agar ou de bouillon **Trypticase** Soy Broth de *Salmonella arizonae* (ATCC 13314), de *Proteus vulgaris* (ATCC 9484) et de *Citrobacter freundii* (ATCC 8454), en piquant le culot et en striant la pente avec une aiguille d'ensemencement. Les tubes sont incubés, avec les bouchons desserrés, à 35 ± 2 °C. La croissance et les réactions sont évaluées au bout de 18 à 24 h d'incubation. La croissance de tous les organismes est modérée à forte. *S. arizonae* décarboxyle la lysine, ce qui génère une réaction alcaline (couleur pourpre) à la

fois dans la pente et dans le culot, et donne un résultat positif pour la production d'acide sulfhydrique, révélée par un noircissement du milieu. *P. vulgaris* désamine la lysine, ce qui se traduit par la coloration rouge de la pente et par la production d'acide dans le culot (couleur jaune), et donne un résultat négatif pour la production d'acide sulfhydrique. *C. freundii* donne des résultats négatifs pour la désamination et la décarboxylation de la lysine, ce qui produit une réaction alcaline dans la pente et une réaction acide dans le culot (couleur jaune) révélatrice de la fermentation de dextrose et pouvant ou non être associée à la production d'acide sulfhydrique.

XIII CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
220952	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, boîte de 10 tubes de taille K
220953	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, carton de 100 tubes de taille K
297700	BD BBL Lysine Iron Agar Slants, carton de 100 tubes de taille D

XIV REFERENCES

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. Tenover, 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. Tenover 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.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site 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.