

Finalidade:

Meio para provas bioquímicas, teste de descarboxilação da lisina e teste de produção de H₂S.

Registro ANVISA:

Não Aplicável

Apresentação:

510174 - LIA-AGAR-LIS/FERRO-5mL-TB 13X100-CX10TB

LB 172300
Rev. 04 – 11/2019

1. INTRODUÇÃO

Meio diferencial utilizado no processo de identificação de bacilos gram negativos (BGN) fermentadores da glicose (enterobactérias).

O Agar ferro lisina é preparado de acordo com a formulação de Edwards e Fife, que desenvolveram o meio para detectar *Salmonella arizonae*. A *S. arizonae* fermenta a lactose rapidamente e os autores descobriram que a produção de H₂S esperada no ágar triplo de ferro de açúcar foi suprimida. Ao eliminar a lactose e incorporar a lisina, Edwards e Fife conceberam um bacilo entérico de diferenciação média, com base na sua capacidade de descarboxilar ou desaminar a lisina e produzir sulfato de hidrogênio abundante.

O Ágar de ferro lisina é um meio diferencial para a identificação de bacilos entéricos.

2. COMPOSIÇÃO

Formulação	Concentração/L
Peptona	5,0g
Extrato de Levedura	3,0g
Dextrose	1,0g
Lisina	10,0g
Citrato férrico amoniacal	0,5g
Tiosulfato de sódio	0,04g
Púrpura de Bromocresol	0,02g
Ágar	15,0g
pH 6,7 ± 0,2 a 25°C	

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

3. AMOSTRA**a- Tipos de amostras**

Colônias puras de BGN originárias de cultivos de 18-24h a 35-37°C.

- 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**

A dextrose serve como uma fonte de hidratos de carbono fermentáveis. O indicador de pH, púrpura de bromocresol, muda para cor amarela em um pH inferior ou igual a 5,2 e tem cor púrpura em um pH igual ou superior a 6,8. O citrato de amônio férrico e o tiosulfato de sódio são indicadores da formação de ácido sulfídrico. A lisina é o substrato utilizado para detectar as enzimas lisina descarboxilase e lisina desaminase.

As culturas de bacilos entéricos que produzem ácido sulfídrico causam o escurecimento do meio devido à produção de sulfuretos férricos. As culturas que produzem lisina descarboxilase originam uma reação alcalina (cor púrpura) ou neutra no fundo do meio. Os microrganismos que causam a desaminação da lisina originam o desenvolvimento de uma superfície inclinada vermelha sobre um

fundo ácido. Poderá ocorrer a formação de gás, que é muitas vezes irregular ou suprimida.

b- Armazenamento e estabilidade

Para fins de transporte, o produto pode permanecer em temperatura ambiente por até 72h. No laboratório os tubos devem ser armazenados 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.

c- Precauções e cuidados especiais

- O produto é destinado apenas para o uso *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 tubos 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 de serviços de saúde.

5. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS NECESSÁRIOS (porém não fornecidos)

- Estufa bacteriológica;
- Agulha bacteriológica;
- Bico de Bunsen.

6. PROCEDIMENTO TÉCNICO

- Retirar do refrigerador a quantidade de tubos que serão utilizados e colocar em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirir esta temperatura;
- Tocar com a agulha uma colônia a ser analisada e inocular por picada profunda e estriamento na superfície inclinada;
- Incubar o material em estufa bacteriológica entre 35-37°C entre 18-24h;
- Após a incubação, verificar o crescimento e fazer a leitura das provas:
 - Descarboxilação da lisina: o meio adquire uma coloração púrpura principalmente em sua base, na prova negativa o meio apresenta coloração amarela (inicialmente o meio adquire coloração amarelada em função da fermentação da glicose contida no meio);
 - Produção de H₂S: a prova positiva caracteriza-se pelo surgimento de uma coloração negra no meio.

7. RESULTADOS

- Descarboxilação da lisina: o meio adquire uma coloração púrpura principalmente em sua base, na prova negativa o meio apresenta

coloração amarela (inicialmente o meio adquire coloração amarelada em função da fermentação da glicose contida no meio);
- Produção de H₂S: a prova positiva caracteriza-se pelo surgimento de uma coloração negra no meio.

Reações típicas dos membros da família Enterobacteriaceae:

	Superfície inclinada do ágar	Fundo do ágar	H ₂ S
Grupo Arizona	Alcalina	Alcalina	+ ou neutra
<i>Salmonella entérica</i> subespécie enterica serótipo Paratyphi A	Alcalina	Ácida	-
Outras salmonelas	Alcalina	Alcalina	+
Shigella	Alcalina	Ácida	-
Citrobacter	Alcalina	Ácida	+
Klebsiella	Alcalina	Alcalina	- ou neutra
Escherichia	Alcalina	Alcalina	- ou neutra*
Proteus	Vermelha	Ácida	-
Providencia	Vermelha	Ácida	-

Alcalina = cor púrpura, Ácida = cor amarela, Neutra = cor cinzenta azulada. *Uma reação alcalina ou neutra indica descarboxilação.

8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 36/2015)

Os resultados falsamente positivos ou negativos, riscos associados à instabilidade, que poderiam levar a resultados errôneos, podem ocorrer, com maior frequência, nas seguintes situações:

- 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:

Microrganismo	Resultado esperado
<i>Salmonella thyphimurium</i>	Ápice Alcalino [Púrpura] H ₂ S Positivo [Negro] Gás Variável (+ ou -) Base Alcalina [Púrpura]
<i>Escherichia coli</i>	Ápice Alcalino [Púrpura] H ₂ S Negativo Gás Variável (+ ou -) Base Alcalina [Púrpura]

- *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;
 - que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
 - que 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 0800-410027 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.

11. REFERÊNCIAS

1. Difco Manual, 2th edition 2009.
2. ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media. 1rd ed. The International Organization for Standardization, 2014.
3. ISO 6579-1:2017. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of Salmonella spp.
4. Silv- Koneman, Elmer; et al. Diagnostic Microbiology. Lippincott, USA, 5 ed., 1997.
5. Mahon, Connie, Manuselis, George Jr. Diagnostic Microbiology. Saunders, USA, 1995a, de Neusely; et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 5ª ed., 2017.
6. Murray, P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed, American Society for Microbiology 1999.
7. Silva, de Neusely; et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água, 4º ed., 2010.



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 041 36619000

www.laborclin.com.br

Responsável Técnico:

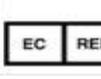
Ana Lúcia Monteiro – CRF/PR-5972

Serviço de Assessoria ao Cliente

SAC 0800-410027

sac@laborclin.com.br

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 oxido 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 de luz solar e longe do calor		Somente para avaliação de desempenho de IVD
	Não reutilizar		Não reesterilizar

Fonte: ABNT NBR ISO 15223-1 – Segunda edição (28.07.2015)