

**Finalidade:**

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

**Registro ANVISA:**

10097010135

**Apresentação:**

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

LB 172133  
Rev. 06 – 09/2024

**1. INTRODUÇÃO**

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 usuário deve estabelecer os critérios de obtenção, armazenamento e rejeição para cada material específico.

**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 num pH inferior ou igual a 5,2 e tem cor púrpura num 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 diagnóstico *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**

*a-* Retirar do refrigerador a quantidade de tubos a usar e colocar em estufa bacteriológica entre 35-37°C pelo tempo necessário para adquirir esta temperatura;

*b-* Tocar com a agulha uma colônia a ser analisada e inocular por picada profunda e estriamento na superfície inclinada;

*c-* Incubar o material em estufa bacteriológica entre 35-37°C entre 18-24h;

*d-* 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 H<sub>2</sub>S: 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 H<sub>2</sub>S:

A prova positiva caracteriza-se pelo surgimento de uma coloração negra no meio.

**8. LIMITAÇÕES DO MÉTODO**

(Riscos Residuais Identificados conforme RDC 830/2023)

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

Riscos Residuais identificados

- Os riscos residuais existentes acerca dos resultados do LIA AGAR:
- 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:

Micro-organismo	Resultado esperado
Especificidade <i>Escherichia coli</i> – ATCC 25922 – 35°C / 24h	Âpice Alcalino [Púrpura] H <sub>2</sub> S Negativo Gás Variável (+ ou -) Base Alcalina [Púrpura]
Especificidade <i>Proteus Mirabilis</i> – ATCC 25933 – 35°C / 24h	H <sub>2</sub> S Negativo (pode ocorrer reações positivas fracas) Base Ácida [Amarelo]
Especificidade <i>Salmonella thyphimurium</i> – ATCC 14028 – 35°C / 24h	Âpice Alcalino [Púrpura] H <sub>2</sub> S Positivo [Negro] 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;
  - Os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas;
  - 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](http://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 0800-0410027 ou pelo e-mail [sac@laborclin.com.br](mailto: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. 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



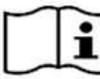
#### Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda

CNPJ 76.619.113/0001-31  
Insc. Estadual 1370012926  
Rua: Casimiro de Abreu, 521  
Pinhais/PR CEP 83.321-210  
Telefone: (41) 3661-9000  
[www.laborclin.com.br](http://www.laborclin.com.br)

#### Responsável Técnico:

Maire Wakamori – CRF/PR-20176  
Serviço de Assessoria ao Cliente  
SAC 0800-0410027  
[sac@laborclin.com.br](mailto: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 – Terceira edição (24.08.2022)