

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۵	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل LIA
شماره سند:		صفحه: ۱ از ۳
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش استقرار: میکروبیشناسی

دستورالعمل انجام تست Lysine Iron Agar

هدف:

این محیط برای تفکیک ارگانیسم های روده ای بر اساس توانایی در دکربوکسیله یا دامینه کردن لایزین و تشکیل سولفید هیدروژن به کار میرود.

اقدامات وابسته:

قبل از انجام تست، محیط باید با سوش های استاندارد مطابق دستورالعمل کنترل کیفی محیط های کشت، کنترل کیفی شود.

اصول کار:

عصاره مخمر، ویتامین های B-Complex را در محیط برای باکتری مهیا می کند. دکستروز منبع کربوهیدرات قابل تخمیر است. معرف PH (برم کرزول پرپل) در زیر PH ۵/۲ به رنگ زرد تغییر می یابد و در بالای PH ۶/۸ ارغوانی می شود.

سیترات آمونیوم فریک و تیوسولفات سدیم، معرف های تشکیل سولفید هیدروژن هستند. لایزین، سوسترایی برای استفاده در شناسایی آنزیم های لایزین دکربوکسیلاز و لایزین دامیناز است.

نمونه اولیه:

کشت تازه ۱۸-۲۴ ساعته

وسایل مورد نیاز:

- محیط کشت LIA
- آنس
- انکوباتور
- شعله

ایمنی:

دستکش و سایر لوازم حفاظت ایمنی شخصی PPE در حین انجام آزمایش می باشد.

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۵	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: دستورالعمل LIA
شماره سند:		صفحه: ۲ از ۳
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش استقرار: میکروبیشناسی

روش انجام آزمایش:

با استفاده از آنس استریل خنک شده، از کلنی های ایزوله روی محیط کشت، برداشته و بر روی عمق و سطح شیب دار محیط، کشت بدهید. بعد از اتمام کشت، لوله ها را با درپوش های شل شده به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای 35 ± 2 درجه سانتی گراد انکوبه کنید.

تفسیر آزمایش:

انکوباسیون بیش از ۲۴ ساعت و قبل از ۱۸ ساعت باعث مثبت و یا منفی کاذب در نتایج تست خواهد شد.

کشت هایی از باسیل های روده ای که سولفید هیدروژن تولید میکنند به علت تولید سولفید فریک باعث سیاه شدن محیط می شوند. آنهایی که لایزین دکربوکسیلاز تولید می کنند؛ واکنش قلیایی (ارغوانی رنگ) یا واکنش خنثی در عمق و سطح تولید می نمایند.

ارگانیسمی هایی که لایزین را دامینه میکنند باعث گسترش رنگ قرمز در سطح، بر روی عمق اسیدی (زرد) می شوند. ممکن است گاز تشکیل شود، اما تشکیل آن اغلب نامنظم و بی قاعده است، یا اینکه مهار می شود.

دکربوکسیلاسیون لایزین، با ایجاد یک واکنش قلیایی (ارغوانی) در عمق مشخص می شود. دامیناسیون با ایجاد سطح قرمز مشخص می شود. تولید سولفید هیدروژن با تشکیل رسوب سیاه مشخص میگردد. واکنش منفی (سطح ارغوانی و عمق زرد) تنها تخمیر دکستروز را نشان می دهد. ممکن است ارگانیسیم هایی که از نظر فعالیت لایزین دکربوکسیلاز منفی هستند، نتوانند سولفید هیدروژن را در این محیط نشان دهند، چون ممکن است تولید اسید در عمق، تشکیل آن را مهار کند. به این دلیل گونه پروتئوس تولید کننده H_2S این محیط را سیاه نمیکند.

فرم: دستورالعمل LIA صفحه: ۳ از ۳	تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۵ شماره سند:
بخش استقرار: میکروبیشناسی	محدوده توزیع: تضمین کیفیت



آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت

کنترل کیفی :

SH2	دکربوکسیلاسیون (عمق)	دآمیناسیون (سطح)	رشد	سویه های کنترل کیفی
(-)	بنفش(+)	بنفش(-)	خوب	<i>E.Coli</i> (ATCC25922)
(+)	بنفش(+)	بنفش(-)	خوب	<i>S.Typhimurium</i> (ATCC14028)
(-)	زرد(-)	بنفش(-)	خوب	<i>Sh.Flexneri</i> (ATCC12022)
(+)	زرد(-)	قرمز(+)	خوب	<i>P.Mirabilis</i> (ATCC12453)

محدودیت ها و عوامل مداخله گر:

- محیط کشت لایزین آیرون آگار باید با عمق زیاد تهیه شود چون عمل دکربوکسیلاسیون در عمق محیط انجام میگیرد.
- در مدت انکوباسیون در داخل انکوباتور باید درپوش لوله ها شل باشد تا تبادل هوایی صورت گیرد.
- رعایت زمان انکوباسیون خیلی مهم می باشد. انکوباسیون کمتر از ۱۸ ساعت و بیشتر از ۲۴ ساعت جوابهای مثبت و منفی کاذب میدهد.

مراجع :

دستورالعمل های آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت

نام و امضاء تهیه کننده:	نام و امضاء تأیید کننده:	نام و امضاء تصویب کننده:
حوریه قربانی - کارشناس آزمایشگاه	علی حقی - کارشناس ارشد باکتری شناسی پزشکی	