



TAYLOR LYSINE DECARBOXYLASE BROTH

Terreno di coltura in polvere



Taylor Lysine Decarboxylase Broth
da sinistra: provetta non inocolata, *P. vulgaris* Lys -, *S. Enteritidis* Lys +

1 - DESTINAZIONE D'USO

Il terreno è impiegato, insieme ad altri test biochimici, per la conferma delle colonie di *Salmonella*, isolate da campioni della filiera alimentare.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA* (PER LITRO, DOPO SCIoglimento IN ACQUA)

Estratto di lievito	3 g
Glucosio	1 g
L-lisina	5 g
Bromocresolo porpora	15 mg

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il test di decarbossilazione degli aminoacidi è alla base del terreno sviluppato da Moeller¹ nel 1955 per la determinazione della lisina ed ornitina decarbossilasi e della arginina diidrolasi e del terreno di Falkow² del 1958 per la determinazione della lisina decarbossilasi, quale strumento utile alla differenziazione di *Salmonella* e *Shigella*. Taylor³ nel 1961 modificò il terreno di Falkow omettendo dalla formulazione il peptone poiché causa di falsi positivi da parte di *Citrobacter* e di altri batteri che lo deaminano con formazione di un ambiente alcalino e quindi di false positività. I buoni risultati ottenuti da Taylor sono stati confermati da Bonev⁴ in uno studio comparativo dei tre terreni su 2764 ceppi di *Enterobacteriaceae*. Il terreno è indicato dalla norma ISO 6579⁵ quale test di conferma delle colonie coltivate su terreno selettivo per *Salmonella*, insieme alla semina in TSI ed al test dell'ureasi. Dalla decarbossilazione della lisina, presente nel terreno, si produce cadaverina, una amina che incrementa il pH verso l'alcalinità, messa in evidenza dal porpora di bromo cresolo. Il glucosio, incluso nel terreno, è fermentato dagli enterobatteri con la formazione, nelle prime ore di incubazione, di un ambiente acido, indispensabile al pieno espletamento della attività dell'enzima decarbossilasi. Quando il terreno contenente lisina è inoculato con un ceppo fermentante il glucosio e lisina decarbossilasi positivo, vira dapprima al giallo per la produzione di acidi dalla fermentazione del glucosio quindi al porpora per la formazione di alcalinità, dovuta alla formazione di cadaverina: il test positivo per la lisina decarbossilasi è quindi indicato dalla formazione di una colorazione porpora, il test negativo dalla presenza di una colorazione gialla. L'estratto di lievito fornisce azoto, carbonio, vitamine ed oligoelementi necessari alla crescita batterica.

4 - METODO DI PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 9 g in 1000 mL di acqua purificata fredda, mescolare bene e, se necessario, riscaldare per sciogliere completamente. Distribuire in provette con tappo a vite in ragione di 2 – 5 mL e sterilizzare in autoclave 121°C per 15 minuti.

5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, biancastra
Aspetto del terreno in soluzione ed in provetta	violetto, limpido o leggermente opalescente
pH (20-25°C)	6,8 ± 0,2

6 - MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
Taylor Lysine Decarboxylase Broth	Terreno di coltura in polvere	401367L2	500 g (55,5 L)

7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio tarata e controllata, provette, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, terreni di coltura accessori e reagenti.

8 - CAMPIONI

Il campione è costituito da colture di batteri isolati su terreno selettivo per *Salmonella* e purificate su appropriato terreno (es. Nutrient Agar).

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Con un ago da batteriologia, caricato con la colonia in esame, inoculare appena sotto alla superficie del terreno in provetta. Incubare, con i tappi chiusi, a 37°C per 24 ± 3 ore.

10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo incubazione, osservare la presenza di crescita (torbidità) ed il viraggio del colore del terreno.
Reazione positiva: presenza di torbidità e di una colorazione porpora (decarbossilazione della lisina).
Reazione negativa: il terreno si presenta torbido di colore giallo chiaro (fermentazione del glucosio).
La maggior parte delle colture tipiche di *Salmonella* mostra una reazione positiva.

11 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del terreno qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.



CEPPI DI CONTROLLO
P. vulgaris ATCC 9484
S. Enteritidis ATCC 13076

 INCUBAZIONE T° / T
 37° / 24H / A
 37° / 24H / A

 SPECIFICHE
 test negativo (giallo)
 test positivo (porpora)

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12- CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di Taylor Lysine Decarboxylase Broth viene testato per le specifiche caratteristiche di prestazione, confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato. Colture pure, cresciute per 18-24 ore su Tryptic Soy Agar, di ceppi positivi e negativi alla lisina decarbossilasi vengono inoculate direttamente nelle provette. Ceppi positivi alla lisina decarbossilasi: *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Enteritidis* ATCC 13076, *S. arizonae* ATCC 13314, *S. Dublin* CB 9.5; ceppi negativi alla lisina decarbossilasi: *C. freundii* ATCC 8090, *P. vulgaris* ATCC 9484, *P. mirabilis* ATCC 10005, *P. stuartii* ATCC 33672. Le provette sono incubate con tappi allentati a 37 °C per 24 ore. Per tutti i ceppi le reazioni sono conformi alle specifiche.

CB: Collezione microbica Biolife

13 - LIMITI DEL METODO

- Con le provette tenute in posizione verticale durante l'incubazione, si possono osservare due strati di colore diverso; agitare la provetta per una corretta lettura del risultato.⁵
- Il terreno con lisina è indicato per differenziare *Citrobacter* (generalmente negativo) da *Salmonella* (generalmente positiva al test); tuttavia *Salmonella* Paratyphi A da reazioni negative (provetta gialla).⁶
- La decarbossilazione della lisina è uno dei test necessari per l'identificazione di *Salmonella*. Il risultato del test di decarbossilazione deve essere interpretato insieme ad altri test per una corretta identificazione dei ceppi.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è per controlli microbiologici, è per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

15 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi). L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni preparati in laboratorio e della definizione del loro periodo di validità, in funzione della tipologia e del metodo di conservazione (temperatura e confezionamento). Secondo la norma ISO 6579, le provette preparate dall'utilizzatore possono essere conservate a 2-8°C per un massimo di tre mesi.⁵

16 - BIBLIOGRAFIA

- Moeller V. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1955;36(2):158-72.
- Falkow S. Activity of lysine decarboxylase as an aid identification of *Salmonella* and *Shigella*. *Amer J Clin Path* 1958; 29: 589-600.
- Taylor, W.I. Isolation of Salmonellae from Food Supplies. V. Determination of the Method of Choice for Enumeration of *Salmonella*. *Appl Microbiol* 1961; 9:487-490.
- Bonev SI, Zakhariyev Z, Gentchev P. Comparative Study of Media for Determination of Lysine Decarboxylase Activity. *App Microbiol* 1974; 27: 464-468.
- ISO 6579:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* —Part 1: Detection of *Salmonella* spp.
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	o REF	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura		 Contenuto sufficiente <n> test per	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 2	Aggiornamento dei capitoli 11, 13 e 14 e del layout	05/2020
Revisione 3	Inserimento del capitolo 12; aggiornamento dei capitoli 6, 13, 14 e 15	02/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.