

KLIGLER IRON AGAR

Provette pronte per l'uso

IMPIEGO PREVISTO

Terreno pronto all'uso in provetta per l'identificazione degli enterobatteri

FORMULA (g/l)

Estratto di carne	3.000
Estratto di lievito	3.000
Peptocomplex	20.000
Lattosio	10.000
Glucosio	1.000
Ferro solfato	0.200
Sodio tiosolfato	0.300
Sodio cloruro	5.000
Rosso fenolo	0.024
Agar	12.000

pH finale 7.4 ± 0.2

DESCRIZIONE

Kligler Iron Agar è un terreno impiegato per la differenziazione degli enterobatteri in base alla loro capacità di fermentare il glucosio ed il lattosio e di produrre idrogeno solforato. La fermentazione degli zuccheri presenti può avvenire sia aerobicamente (sulla superficie dello slant) sia anaerobicamente (in profondità) con o senza presenza di gas (CO₂ + H₂). Per quanto riguarda la fermentazione degli zuccheri su K.I.A. si possono registrare tre modelli di reazione:

- fermentazione del glucosio
- fermentazione del glucosio e del lattosio
- nessuna fermentazione

Nel primo caso dopo 18-24 ore di incubazione si osserva una reazione alcalina sullo slant e una reazione acida in profondità. L'utilizzazione completa del glucosio, presente alla concentrazione dello 0,1%, in superficie, dove esistono condizioni aerobiche, dopo 18-24 ore induce un attacco catabolico dei peptoni da parte dei microrganismi con produzione di ione ammonio e viraggio del rosso fenolo verso il rosso (pH alcalino).

In profondità, invece, dove esistono condizioni anaerobiche si registra unicamente una fermentazione del glucosio a prodotti acidi stabili con conseguente viraggio dell'indicatore verso il giallo (pH acido).

Nel secondo caso, quando siano presenti microrganismi che fermentano entrambi i carboidrati, si registra dopo 18-24 ore di incubazione una reazione acida in superficie ed in profondità.

Ciò è dovuto alla elevata concentrazione del lattosio; dopo 18-24 ore non è ancora terminata in superficie la sua degradazione e quindi non si ha alcun attacco dei peptoni.

Nel terzo modello sperimentale si registra una reazione alcalina sia in superficie che in profondità. Alcuni batteri Gram negativi non enterici presenti nell'intestino non fermentano il glucosio e il lattosio ma possono degradare aerobicamente e/o anaerobicamente i peptoni (*Alcaligenes faecalis*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*).

Se la degradazione dei peptoni è anaerobica si ha un viraggio dell'indicatore verso il rosso (pH alcalino) sia in superficie che in profondità, se la degradazione è aerobica, in profondità non c'è alcun cambiamento di colore del terreno.

Su K.I.A. si può osservare anche la produzione di idrogeno solforato a partire dal sodio tiosolfato quando l'ambiente sia acido.

L'idrogeno solforato è evidenziato da un apposito indicatore, il ferro ammonio citrato, che in presenza di H₂S precipita sotto forma di ferro solfuro nero.

Il precipitato nero può a volte mascherare il colore reale dell'indicatore: comunque ciò non può far sorgere dubbi poichè l'H₂S è prodotto esclusivamente quando il pH del mezzo è acido.

METODO ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Per l'esecuzione del test, seminare infiggendo l'ago caricato con una colonia pura sul fondo e strisciando abbondantemente in superficie. Incubare a 37°C per 24-48 ore con i tappi allentati. Osservare il colore del terreno in superficie e in profondità, la presenza di gas in profondità e la presenza del precipitato nero (H₂S).

Nella tabella sottostante sono riassunte le caratteristiche colturali di alcuni microrganismi su Kligler Iron Agar

Microrganismo	Superficie	Profondità	H ₂ S
<i>Escherichia</i>	A/K	A/G o A	V
<i>Klebsiella</i>	A	A/G	-
<i>Enterobacter</i>	A	A/G	-
<i>Citrobacter</i>	A/K	A/G	+
<i>Salmonella paratyphi</i>	A/K	A	-
<i>Salmonella spp</i>	K	A/G	+
<i>Proteus morgani</i>	NC	A	-
<i>Proteus vulgaris</i>	NC	A	+
<i>Shigella</i>	NC	A	-
<i>Salmonella arizonae</i>	K	A/G	+

LEGENDA

NC	= nessuna reazione
V	= reazione variabile
K	= reazione alcalina
A/G	= reazione acida produzione di gas
A	= reazione acida

LIMITI

E' necessario inoculare per infissione il terreno senza rompere l'agar. La produzione di H₂S può mascherare la reazione acida sul fondo; tuttavia la produzione di H₂S richiede condizioni acide quindi il fondo si deve considerare acido quando vi è annerimento. Alcuni microrganismi fermentano il glucosio oltre le 48 ore; generalmente tali microrganismi non sono enterobatteri. Questo terreno non è indicato per la semina diretta del campione. L'identificazione completa del ceppo in esame deve essere eseguita con altri test biochimici e/o sierologici complementari.

CONSERVAZIONE E VALIDITA'

Conservare a 2-8°C al buio, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento. Validità del prodotto dalla data di fabbricazione: 8 mesi.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$. Il prodotto qui descritto è solo per uso diagnostico *in vitro* e deve essere usato in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le provette dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Mac Faddin, J.F. (1976) - Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. Baltimore: The Williams & Wilkins Company.

CONFEZIONE

REF 551560 **Kligler Iron Agar,**
20 provette di vetro, 18x145 mm, fondo piano, tappo a vite, con 7-8 ml di terreno solidificato a becco di clarino.

