

AGAR XLD XILOSA LISINA DESOXICOLATO RS 2012 RD-0002221

Medio de cultivo Agar XLD Para aislamiento e identificación presuntiva de los géneros *Shigella* y *Salmonella*

INTRODUCCIÓN:

El medio de Xilosa Lisina Desoxicolato presentado en caja de Petri desechable preparado por BIOBACTER SAS es un medio moderadamente selectivo utilizado para el aislamiento y diferenciación de patógenos entéricos principalmente especies de *Shigella* este medio es recomendado para el análisis de aguas, alimentos y muestras clínicas.

COMPONENTES:

1. Caja por 10 unidades
2. Inserto

MATERIALES SUMINISTRADOS:	REQUERIDOS	NO
------------------------------	------------	----

1. Asas Bacteriológicas
2. Guantes estériles
3. Tapabocas
4. Estufa a 37°C
5. Mechero de Bunsen

METODOLOGÍA

Principio del método:

La Xilosa es incorporada al medio ya que todos los patógenos entericos son fermentadores de este carbohidrato, excepto los microorganismos pertenecientes al género *Shigella*, lo cual permite con gran facilidad diferenciar las especies pertenecientes a este género.

La lisina es adicionada básicamente para permitir la diferenciación de microorganismos del genero *Salmonella*, ya que sin lisina los microorganismos pertenecientes a este genero fermentarían rápidamente la xilosa y serian indistinguibles de las enterobacterias no patógenas que son fermentadoras de xilosa.

Adicionalmente al medio le fue incorporado un indicador (Tiosulfato de sodio y Citrato ferrico de amonio) para permitir la identificación de cepas productoras de H₂S.

El medio también es adicionado de Desoxicolato de Sodio como agente selectivo para inhibir todas las especies de microorganismos Gram-positivos. De esta forma el medio es diferencial para las especies de *Salmonella* y *Shigella*.

El agar XLD se prepara a partir del medio de cultivo deshidratado y tiene la siguiente composición por litro:

Extracto de levadura 3.0 g, L-lisina 5.0 g, Lactosa 7.5 g, Sucrosa 7.5 g, Xylosa 3.5, Cloruro de Na 5.0g, Desoxicolato de Na 2.5g, Tiosulfato de Na 6.8g, Citrato férrico de amônio 0.80g, Rojo de fenol 0.08g, Agar 15g.

CRITERIOS DE DESEMPEÑO Y LIMITACIONES DEL MÉTODO:

Se pueden presentar colonias rojas falsas positivas producidas por algunas especies de *Proteus* y *Pseudomonas*.

La incubacion en exceso de más de 48 horas puede presentar resultados falsos positivos

Algunas especies de *Salmonella* pueden presentar colonias rojas sin centro negro, confundándose con especies de *Shigella*.

Algunas especies de *Proteus* pueden presentar colonias con centro negro sobre este agar.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

El medio agar XLD en placa de Petri viene listo para ser utilizado.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El medio XLD debe conservarse a T° de 4-8°C colocando las cajas en posición invertida para evitar que el agua de condensación pueda caer sobre la superficie del medio. Este medio debe manipularse con cuidado evitando movimientos bruscos o caídas que puedan resquebrajar la capa del medio.

La congelación arruina totalmente el medio.

Conservado en condiciones óptimas el medio es estable hasta la fecha de expiración señalada.

PROCEDIMIENTO

1. Con asa bacteriológica estéril trabajando siempre a la llama del mechero, tomar una mínima muestra.
2. Sembrar suavemente sobre la superficie tersa del medio por el procedimiento de agotamiento.
3. Incubar las placas en posición invertida a 37°C en aerobiosis o atmósfera de 6% de CO₂.
4. Al término de 18-24 horas de incubación examinar el cultivo y determinar los estudios a seguir según las características de las colonias.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS ANALÍTICOS

La fermentación de la Xilosa, lactosa y sucrosa genera la producción de ácido provocando un cambio de color en el medio de rojo a amarillo.

La producción de H₂S en condiciones alcalinas produce colonias con centro negro. Esta reacción se ve inhibida en condiciones ácidas acompañadas de la fermentación de carbohidratos.

La decarboxilación de la lisina en ausencia de fermentación de sucrosa y lactosa causa reversión en condiciones alcalinas y el color del medio cambia de nuevo a rojo.

La morfología y color de las colonias en agar XLD son las siguientes:

Salmonella: Colonias rojas con centro negro.

Shigella: Colonias rojas

E.coli: Colonias grandes, amarillas, algunas cepas pueden ser inhibidas.

Enterobacter/ Klebsiella: Colonias amarillas, mucoides

Proteus: Colonias rojas a amarillas, muchas cepas presentan centro negro.

CONTROL DE CALIDAD:

El Agar XLD tiene un estricto control de calidad durante el proceso de producción y al producto terminado que incluye el cumplimiento de las especificaciones del medio y las pruebas de crecimiento de cepas ATCC.

Salmonella Typhi U.Nal
Salmonella paratyphi Subs Durazzo 11511
Shigella dysenteriae U.Nal
Escherichia coli 25922
Proteus mirabilis 29906
Enterobacter aerogenes 13048
Klebsiella pneumoniae 13883

Para las pruebas de inhibición de cepas Gram-positivas se utiliza el *Enterococcus faecalis 19433*

VALOR DE REFERENCIA:

El Agar XLD debe permitir el crecimiento de microorganismos gramnegativos principalmente del género *salmonella* y *shigella* e inhibir el crecimiento de cepas Gram-positivas

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

Se debe tener estrictas medidas de asepsia y antisepsia. Desechar todos los elementos utilizados en recipientes con solución de Hipoclorito de Sodio al 2.5%. Los cultivos una vez leídos deben esterilizarse en autoclave y luego empacarse en bolsa plástica roja para ser recogidos por la compañía recolectora de desechos biológicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Wentworth BB, Baselkivs, Doern GV et al.** Diagnostic procedures for bacterial infections 7th Ed. 1987. Washington, D.C Am Pub Health Ass.
2. **Pfaller MA.** Microbiology. Section IX, Chapter 44, Bacteriology pp 1111-1168 in Clinical laboratory Medicine Edited by McClatchey KD. 1994 Williams and Wilkins. Baltimore MD 21202 USA.
3. **Becton, Dickinson and Company.** Section III Culture Medium and Ingredients. Manual of Microbiological Culture Media. Pg 151-153 Maryland USA 2003.
4. **Nash P, Krenz.MM.** . Culture Media. Chapter 121. pg 1226-1228 in: Manual of Clinical Microbiology, edited by Balows A, Hauser WJ, Jr, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Fifth Ed. 1991 Am Soc Microbiol. Washington DC.
5. Quality control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition; Document M22-A3. CLSI 940 West Valley Road. Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 19087- 1898 USA, 2004.

REVISIÓN SEGÚN NORMAS DEL INVIMA ABRIL 2012