

COMBI-PLATE Agar XLD Agar / MacConkey

REF 285-676

2



12

IVD Material para Diagnóstico *In Vitro*

Presentación:

Medio de cultivo listo para su uso, estuche de 10 unidades,
Placas de dos sectores de 90 mm x 15 mm. (ref. 285-676).

Composición (gramos / litro):

Agar MacConkey:

Digesto pancreático de gelatina:	17.00
Lactosa monohidrato	10.00
Cloruro de Sodio	5.00
Peptona de carne y caseína	3.00
Sales Biliares	1.50
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta	0.001
Agar Bacteriológico	13.50
pH final medio de cultivo listo para el uso:	7.1 +/- 0.2

Agar XLD:

Extracto de levadura:	3.00
L- Lisina:	5.00
Xilosa:	3.50
Lactosa:	7.50
Sacarosa:	7.50
Sodio desoxicolato:	2.50
Cloruro de sodio:	5.00
Tiosulfato de Sodio:	6.80
Citrato de amonio férrico:	2.80
Rojo de fenol:	0.08
Agar bacteriológico:	13.50
pH final medio de cultivo listo para el uso:	7.4 +/- 0.2

Descripción:

Medios de cultivo selectivos, adecuado para el aislamiento de microorganismos Gram negativos tolerantes a la bilis, a partir de muestras de origen clínico (deposiciones)¹, aguas y aguas residuales², y alimentos^{3,4}, así como también otras muestras de origen industrial⁵. Cumple los requerimientos de USP (United States Pharmacopeia) para la realización de pruebas de control de calidad microbiológico⁶.

Su formulación permite la diferenciación de enterobacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, y una adecuada orientación para el aislamiento de Salmonellas y Shigellas en deposiciones.

El contenido de sales biliares y cristal violeta del Agar MacConkey inhibe el desarrollo de bacterias Gram positivas, sin

impedir la recuperación de las enterobacterias⁸. Los aislados de bacterias coliformes presentan una coloración rosa-rojo típica, que puede incluir halos de precipitación de sales biliares como resultado de la acidificación por la fermentación de la lactosa en la zona que rodea las colonias. Las colonias de bacterias no fermentadoras de lactosa permanecen incoloras y no producen halos de precipitación, aún en cercanía de colonias de coliformes.

El Agar XLD fue introducido por Taylor y cols. (1965) para el aislamiento de bacterias entero patógenas, especialmente Shigellas, aunque también ha demostrado ser excelente para recuperar Salmonella spp. Su selectividad está dada por el contenido de desoxicolato de sodio, y su indicador se fundamenta en que la mayoría de los microorganismos entéricos, con la excepción de Shigella, son capaces de fermentar la Xilosa con producción de ácido. Además Salmonellae tiene la capacidad de decarboxilar la lisina presente, produciendo una elevación del pH o manteniéndolo neutro. En estas condiciones puede verificarse la formación de H₂S por reducción del tiosulfato, lo que origina colonias con centro negro. Citrobacter spp. también puede decarboxilar la lisina, pero al ser productor de ácido por fermentación de la lactosa y la sacarosa, origina un pH ácido que evita la formación de H₂S.

Materiales y Reactivos necesarios, pero no suministrados:

Estufa de cultivo.

PRECAUCIONES PARA SU USO ADECUADO:

- Material para uso diagnóstico IN VITRO y control microbiológico.
- Solo para uso profesional. Requiere usuarios con entrenamiento previo.
- Contiene compuestos de origen animal, la inocuidad no es garantizada. Requiere manipulación con precaución relativa a productos potencialmente infecciosos. NO INGERIR EL PRODUCTO, NO INHALAR EL PRODUCTO
- No debe ser usado como materia prima para ninguna otra fabricación.
- No debe usarse pasado su fecha de expiración.
- No debe usarse si el envase esta deteriorado. Material garantizado solo con sellos intactos.
- No debe usarse si se observa contaminación bacteriana.
- Temperar la placa sin sello antes de su uso. No utilizar con condensación excesiva. No resellar.
- Para la interpretación de los resultados se debe tener en cuenta las características propias de cada especie bacteriana sometida a prueba, como asimismo los antecedentes clínicos o epidemiológicos del caso en estudio.
- El material utilizado debe descartarse de manera segura de acuerdo a las normativas de bioseguridad vigentes en el país

Conservación:

Conservado refrigerado entre 2º y 12º C es estable hasta la fecha de caducidad. El medio de cultivo se debe almacenar sellado y con la cubierta de la placa (tapa) abajo. Se recomienda almacenar a temperaturas cercanas a 8ºC. A menor temperatura de almacenamiento mayor probabilidad de condensación y por tanto mayor riesgo de filtración del sello de PVC. Durante la conservación en frío pueden aparecer cristalizaciones de sales biliares en Agar XLD. Esto no afecta los resultados obtenidos en el medio de cultivo.

Muestras a cultivar:

Muestras de origen clínico, especialmente deposiciones. Muestras de la industria de alimentos, aguas y aguas residuales que puedan contener bacterias tolerantes a las sales biliares, como por ejemplo enterobacterias y miembros de los géneros Salmonella y Shigella.

Inoculación:

Para muestras de origen médico sembrar mediante estría en superficie, a partir de muestras primarias. El Agar XLD puede ser sembrado intensivamente gracias a su poder inhibidor.

Las muestras de origen industrial debe pre enriquecerse y sembrarse de acuerdo a las normativas adoptadas por el usuario.

Incubación:

Para muestras médicas incubar por 24 a 48 horas entre 35° y 37°C, atmósfera aeróbica. La incubación de siembras en Agar MacConkey en atmósfera de CO₂ puede reducir el desarrollo y recuperación de algunas cepas bacterias Gram negativas⁷.

Lectura e Interpretación de Resultados:

Una vez completado el período de incubación, observar el desarrollo bacteriano y verificar las siguientes respuestas culturales:

Sobre Agar MacConkey:

Enterobacterias fermentadoras de lactosa o lactosa (+) En Agar MacConkey, colonias color rosa de diversos tonos, algunas pueden presentar halo de precipitación de sales biliares.

Bacterias no fermentadoras de lactosa o lactosa (-) en Agar MacConkey: colonias incoloras o ligeramente coloreadas de beige.

Sobre Agar XLD:

Las bacterias fermentadoras de xilosa, lactosa y sacarosa producen acidificación del medio de cultivo, provocando un viraje del color desde rojo a amarillo.

Las bacterias que decarboxilan la L-lisina a cadaverina producen una zona rojo púrpura por efecto de la elevación del pH.

La producción de H₂S se observa como colonias de color negro, pero solo bajo condiciones alcalinas.

Características de las colonias sobre Agar XLD para diversos microorganismos:

Citrobacter: Colonias amarillas y opacas, pueden presentar centro Negro y bordes claros.

E.Coli, Enterobacter, Serratia: Colonias amarillas y opacas, con zona de precipitación amarilla alrededor.

Edwardsiella: Colonias rojas con centro Negro y bordes claros.

Klebsiella: Colonias grandes y mucoides, amarillas pálidas y opacas, con zona de precipitación periférica.

Proteus mirabilis y Proteus vulgaris: Colonias amarillas, transparentes, con bordes claros, Se observa centro negro especialmente en *P. Mirabilis*.

Morganella morganii: Colonias rojas y transparentes

Salmonella: colonias rojas, transparentes, con centro Negro, algunas con borde amarillo.

Salmonella arizonae: Colonias rojas y transparentes con centro Negro.

Providencia y Shigella: colonias rojas y transparentes.

Las características del desarrollo observado no son suficientes para establecer el diagnóstico de la especie bacteriana. El usuario deberá aplicar pruebas de identificación para esta finalidad.

Control de Calidad:

El usuario puede someter este medio de cultivo a sus propios controles de calidad. La frecuencia de los controles así como las cepas y condiciones de cultivo deberá establecerlas el propio usuario de acuerdo a la normativa local en vigencia.

A modo de referencia, puede realizarse el siguiente ensayo de control de calidad:

Resultados esperados tras 24 horas de cultivo en atmósfera aeróbica a 33°-37°C:

Cepa de Control sobre Agar MacConkey	Resultado esperado
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	colonias rosa
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	colonias incoloras
Cepa de Control sobre Agar XLD	Resultado esperado
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Desarrollo moderado, colonias amarillas con precipitado
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Buen desarrollo colonias rojas, claras, con centro negro
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	colonias incoloras

Limitaciones de Uso:

El Agar MacConkey y el Agar XLD son medios de cultivo selectivos, por lo que solo presentarán desarrollo aquellas bacterias que posean la capacidad de hacerlo. Otras bacterias pueden resultar total o parcialmente inhibidas por la composición del medio de cultivo.

Los resultados son orientativos, el usuario debe realizar pruebas de identificación de especie bacteriana.

Control de esterilidad*:

- No hubo desarrollo a las 48 horas de cultivo (37°C, aeróbico).
- No hubo desarrollo a las 96 horas de cultivo (20°C, aeróbico).

Control de fertilidad*:

Al cultivar en este lote las cepas de control que se indican, se esperan los siguientes resultados de desarrollo:

Cultivo a 37°C, atmósfera aeróbica:

Escherichia coli ATCC 25922 sobre Agar MacConkey: bueno.
Klebsiella pneumoniae ATCC 13883 sobre Agar MacConkey: bueno..
Salmonella Typhimurium ATCC 14028 sobre Agar MacConkey: bueno.
Escherichia coli ATCC 25922 sobre Agar XLD: bueno.
Klebsiella pneumoniae ATCC 13883 sobre XLD: moderado.
Salmonella Typhimurium ATCC 14028 sobre Agar XLD: bueno.

* Cumple norma ISO 13485:2003 y NCh 3162/2.Of2008 Certificados de conformidad para cada lote deben ser solicitados por el cliente.

Eliminación de Desechos:

El usuario es responsable de la adecuada eliminación de los materiales para diagnóstico microbiológico estén utilizados o no, para lo que deberá estar en conocimiento cabal de la normativa local vigente respecto de la disposición de material infeccioso o potencialmente infeccioso. Cada laboratorio asume la responsabilidad de la gestión de sus desechos y efluentes, sea por cuenta propia o mediante terceros que garanticen el adecuado tratamiento de estos, y según lo determinen las reglamentaciones locales vigentes.

Referencias:

- 1.- Bopp, Brenner, Wells and Strockbine. 1999. In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 2.- C. Clesceri, Greenberg and Eaton (ed.). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.
- 3.- Flowers, Andrews, Donnelly and Koenig. 1993. In Marshall (ed.), Standard methods for the examination of dairy products. 16th ed., American Public Health Association, Washington, D.C.
- 4.- Downes and Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- 5.- United States Pharmacopeial Convention, Inc. 2001. The United States pharmacopeia 25/The national formulary 20 – 2002. United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
- 6.- Horwitz (ed.). 2000. Official methods of analysis of AOAC International, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, Md.
- 7.- Mazura-Reetz, Neblett and Galperin. 1979. Abstr. C179, p. 339. Abstr. Annu. Meet. American Society for Microbiology 1979.
- 8.- MacConkey J. H. 5:33. 1905. Joseph Md. State. Dept. Health. Procedures, 1960. European Pharmacopoeia 6.3
- Pub. Health Reports. 65:1075. 1950. Paper Read at Microbiological Congress, 1950. Proc. 22nd Ann. Meet. Northeastern Conf. Lab. Workers in Pullorum Disease Control Burlington, Vermont, June 20-21. 1950.

Rev.01: 12/2009 CIO