

## Agar XLD (Agar Xilosa Lisina Desoxicolato) ISO

Medio selectivo para el aislamiento de Salmonella en los alimentos.

### Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Aislamiento selectivo	Salmonella
Detección	Salmonella

Industria: Aguas de consumo / Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 19250 / ISO 21567 / ISO 6579



### Principios y usos

El Agar XLD (Agar Xilosa Lisina Desoxicolato) se prepara según la formulación de la norma ISO 6579. Se recomienda para la identificación de Salmonella en productos alimenticios, después del preenriquecimiento en un medio fluido no selectivo como el Agua Peptona Tamponada (Cat. 1402) y enriquecimiento en un medio fluido selectivo como la Base de Caldo Muller Kauffmann con Verde Brillante y Novobiocina (MKTTN) (Cat. 1173), el Caldo Rappaport Soja (Vassiliadis) (Cat. 1174) o el Medio Semisólido Modificado Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1376).

Las reacciones son la degradación de los tres carbohidratos fermentables: xilosa, lactosa y sacarosa, con la producción de ácido, que se manifiesta en el cambio de color de rojo a amarillo. El tiosulfato de sodio sirve como una sustancia reactiva con el citrato de amonio férrico como indicador de la formación de sulfuro de hidrógeno en condiciones alcalinas. La lisina se incluye para permitir que el grupo de Salmonella se diferencie de los no patógenos ya que, en su ausencia, la salmonela fermentaría rápidamente la xilosa, haciéndola indistinguible de las especies no patógenas. Después de que la salmonela termina la xilosa presente, la lisina es atacada a través de la enzima lisina descarboxilasa con un cambio a un pH alcalino, similar a la reacción de Shigella. Las bacterias que descarboxilan la L-lisina en cadaverina se identifican por la presencia de un color rojo púrpura alrededor de las colonias debido a la elevación del pH. El rojo fenol es el indicador de pH. El extracto de levadura es una fuente de vitaminas, particularmente del grupo B, esencial para el crecimiento bacteriano. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. El desoxicolato de sodio es el agente selectivo y, por lo tanto, es inhibidor de microorganismos Gram positivos. Agar bacteriológico es el agente solidificante.

Las colonias típicas de Salmonella en agar XLD tienen un centro negro y una zona ligeramente transparente de color rojizo debido al cambio de color del indicador.

Las variantes de Salmonella H<sub>2</sub>S-negativas crecidas en agar XLD son rosadas con un centro rosado más oscuro. La Salmonella lactosa positiva cultivada en agar XLD es amarilla con o sin ennegrecimiento.

### Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	13,5	Citrato de amonio férrico	0,8
Lactosa	7,5	L-Lisina clorhidrato	5
Rojo fenol	0,08	Cloruro sódico	5
Desoxicolato de sodio	1	Tiosulfato de sodio	6,8
Sacarosa	7,5	Xilosa	3,75
Extracto de levadura	3		

### Preparación

Suspender 54 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta la disolución completa. EVITAR EL SOBRECALENTAMIENTO. NO AUTOCLAVAR. Enfriar el medio según la normativa aplicable y verter en placas de Petri tan pronto como se haya enfriado.

Debe evitarse la preparación de grandes volúmenes, el sobrecalentamiento y el almacenamiento prolongado en baño de agua. Pueden formarse

precipitados, pero no afectan el rendimiento de los medios de cultivo.

## Instrucciones de uso

\* Para la detección de *Salmonella* spp. en alimentos, alimentos para animales, heces de animales y muestras ambientales de acuerdo a ISO 6579:

- Preenriquecimiento en medio líquido no selectivo:

Inocular el Agua Peptonada Tamponada (Cat. 1402) con la muestra o diluciones, e incubar a 34-38 °C durante 18±2 h.

- Enriquecimiento en medios selectivos:

Inocular, con el cultivo obtenido en la etapa de pre-enriquecimiento, El Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1174) o en el Medio Semisólido Rappaport Vassiliadis Modificado (MSRV) (Cat. 1376), y el Caldo MKTTN (Cat. 1173).

El Caldo Soja Rappaport y el Medio Semisólido Rappaport Modificado se incuban a 41,5 °C durante 24±3 h, y el Caldo MKTTN a 34-38 °C durante 24±3 h.

- Plaqueo en medios sólidos selectivos:

A partir de los cultivos enriquecidos selectivamente, inocular dos agares de aislamiento selectivo; Agar XLD (Cat. 1274) y cualquier otro medio selectivo complementario al agar XLD (Agar cromogénico de *Salmonella* (Cat. 1122), Agar Verde Brillante (Cat. 1143), Agar Bismuto Sulfito (Cat. 1011), Agar DCLS (Cat. 1045), Agar Citrato Desoxicolato (Cat. 1067), Agar Hektoen Entérico (Cat. 1030), Agar *Salmonella* Shigella (Cat. 1064) y Agar XLT4 (Cat. 1159)).

Incubar las placas de XLD invertidas a 34-38 °C durante 24±3 h.

Incubar el segundo medio selectivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- Confirmación:

Subcultivar colonias presuntivas de *Salmonella* y confirmar su identidad mediante pruebas bioquímicas y serológicas.

Nota: De acuerdo con el Anexo D de ISO 6579-1: 2017, para la detección de subespecies entéricas serovares Typhi y Paratyphi, se debe añadir el medio Caldo Selenito Cistina (Cat. 1220) como medio de enriquecimiento selectivo y el Agar Bismuto Sulfitor (Wilson Blair) debe seleccionarse como segundo medio selectivo (Cat. 1011).

\* Para la detección de *Salmonella* spp. en muestras de agua de acuerdo a ISO 19250:

- Preenriquecimiento en medio no selectivo:

Inocular el Agua Peptonada Tamponada (Cat. 1402) con la muestra o diluciones, e incubar a 34-38 °C durante 18±2 h.

- Enriquecimiento en medios selectivos:

Inocular, con el cultivo obtenido en la etapa de preenriquecimiento, el Caldo Soja Rappaport (Vassiliadis) (Cat. 1174) y el Caldo MKTTN (Cat. 1173).

El Caldo Soja Rappaport se incuban a 41,5±1 °C y el Caldo MKTTN a 34-38 °C, ambos durante 24±3 h.

- Plaqueo en medios sólidos selectivos:

A partir de los cultivos enriquecidos selectivamente, inocular dos agar de aislamiento selectivo; Agar XLD (Cat. 1274) y cualquier otro medio selectivo complementario al agar XLD (Por ejemplo, Agar Brillante Verde (Cat. 1143) o Agar Sulfito Bismuto (Cat. 1011))

Incubar las placas XLD invertidas a 34-38 °C durante 24±3 h.

Incubar el segundo medio selectivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- Confirmación:

Subcultivar colonias presuntivas de *Salmonella* y confirmar su identidad mediante pruebas bioquímicas y serológicas.

## Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Rosa	Rojo-naranja	7,4±0,2

## Test microbiológico

De acuerdo con ISO 11133:

Condiciones de incubación: Productividad, Selectividad ISO 6579 (34-38 °C) / (24±3 h). Productividad, Selectividad ISO 19250 (36±2 °C) / (24±3 h).

Condiciones de inoculación: Productividad (10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> CFU), Selectividad (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
<i>Salmonella</i> enteritidis ATCC 13076	Buen crecimiento (2)	Colonias con centro negro y una zona ligeramente transparente de color rojizo debido al cambio de color del medio
<i>Salmonella</i> typhimurium ATCC 14028	Buen crecimiento (2)	Colonias con centro negro y una zona ligeramente transparente de color rojizo debido al cambio de color del medio
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crecimiento o inhibición parcial (0-1)	Colonias de color amarillo
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición total (0)	

## Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

## Bibliografía

---

International Standard UNE-EN-ISO 6579. Food Microbiology for human consumption and Animal Feed. Horizontal Method for the detection of *Salmonella* spp.

ISO 19250 water quality-detection of *Salmonella* spp

ISO 6579 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Amendment 1: Broader range of incubation temperatures, amendment to the status of Annex D, and correction of the composition of MSRV and SC.