

Agar XLD (Agar Xilosa Lisina Desoxicolato) ISO

Cat. 1274

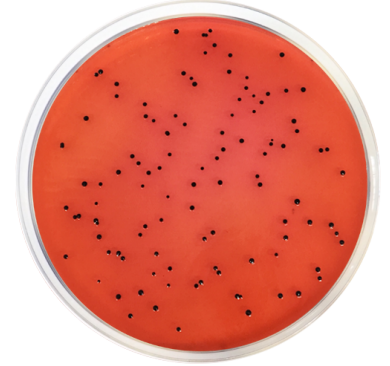
Medio selectivo para el aislamiento de Salmonella en los alimentos.

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 H₂S-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.

Instrucciones de uso

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

- 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 h.

- Enriquecimiento en medios 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)).

El Caldo Soja Rappaport y el Medio Semisólido Rappaport Modificado se incuban a 41,5 °C durante 24 h, y el Caldo de Tetracionato a 37 °C durante 24 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 37 °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.

De acuerdo a ISO 19250 para la detección de Salmonella spp. en muestras de agua:

- Preenriquecimiento en medio no selectivo:

Inocular el Agua Peptonada Tamponada (Cat. 1402) con la muestra o diluciones, e incubar a 36±2 °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 Tetracionato (Muller-Kauffmann) (Cat. 1173).

El caldo Soja Rappaport se incubaba a 41,5±1 °C y el caldo Tetraetionato a 37±1 °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 36±2 °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 (37±1 °C) / (24±3 h). Productividad, Selectividad ISO 19250 (36±2 °C) / (24±3 h).

Condiciones de inoculación: Productividad (10³-10⁴ CFU), Selectividad (10⁴-10⁶ CFU).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Salmonella 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
Salmonella 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
Escherichia coli ATCC 25922	Crecimiento o inhibición parcial (0-1)	Colonias de color amarillo
Enterococcus faecalis 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.

