

## Agar XLD / Agar Salmonella Shigella

### USO

**Agar XLD** (por sus siglas en inglés xilosa, lisina, desoxicolato) es utilizado para el aislamiento y diferenciación de Enterobacterias patógenas, principalmente de los géneros *Shigella* y *Salmonella*.

**Agar Salmonella Shigella** es un medio selectivo y diferencial principalmente para Enterobacterias lactosa negativa.

### EXPLICACIÓN

**Agar XLD** aumenta la eficiencia en el aislamiento e identificación de patógenos entéricos, particularmente de *Shigella*. Los patógenos son diferenciados no solo de los no patógenos fermentadores de lactosa, sino también de varios no patógenos no fermentadores de lactosa o sacarosa. Este medio presenta la ventaja de facilitar el crecimiento de gérmenes exigentes ya que otros medios contienen inhibidores excesivamente tóxicos. El agar XLD está incluido en la USP (United States Pharmacopoeia) para los métodos de límite microbiano y las pruebas de presencia-ausencia de *Salmonella*. En este medio el extracto de levadura provee la fuente de vitaminas del grupo B que favorecen el crecimiento bacteriano. La xilosa, lactosa y sacarosa son los carbohidratos fermentables. El tiosulfato de sodio y el citrato férrico son adicionados para la producción de H<sub>2</sub>S. El rojo de fenol actúa como indicador. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es adicionado como agente solidificante.

**Agar Salmonella Shigella**, también conocido como Agar SS, es un medio diferencial y selectivo que inhibe el crecimiento de la mayoría de los coliformes y permite el crecimiento de especies de *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras de heces, orina, alimentos conservados y frescos. Este agar tiene la ventaja de inhibir microorganismos coliformes Gram-positivos y el swarming de *Proteus spp.*, esto por el contenido de sales biliares, citratos y el verde brillante. Sin embargo, permite el crecimiento de *Salmonella spp.* y *Shigella spp.*

En el medio de tiosulfato de sodio y el citrato férrico permiten la detección de bacterias productoras de H<sub>2</sub>S tales como *Proteus spp.* y algunas cepas de *Salmonella*, las cuales producen colonias con centro negro y halo claro. La diferenciación de las Enterobacterias se logra por la incorporación de lactosa al medio, la cual proporciona la fuente de carbohidratos. Los microorganismos que fermentan la lactosa producen ácido, el cual en presencia del rojo neutro que es el indicador de pH, resultan en la formación de colonias rosas o rojas. Los microorganismos no fermentadores de la lactosa forman colonias incoloras. El agar bacteriológico se usa como agente solidificante.

## FÓRMULA POR LITRO

### *Agar XLD*

|                     |       |                           |        |
|---------------------|-------|---------------------------|--------|
| Xilosa              | 3.5 g | Extracto de levadura      | 3.0 g  |
| L-lisina            | 5.0 g | Rojo de fenol             | 0.08 g |
| Lactosa             | 7.5 g | Desoxicolato de sodio     | 2.5 g  |
| Sacarosa            | 7.5 g | Tiosulfato de sodio       | 6.8 g  |
| Cloruro de sodio    | 5.0 g | Citrato férrico de amonio | 0.8 g  |
|                     |       | Agar bacteriológico       | 13.5 g |
| pH 7.4 ± 0.2 a 25°C |       |                           |        |

### *Agar Salmonella Shigella*

|                          |          |                     |         |
|--------------------------|----------|---------------------|---------|
| Extracto de carne        | 5.0 g    | Citrato de sodio    | 8.5 g   |
| Mezcla de peptonas       | 5.0 g    | Tiosulfato de sodio | 8.5 g   |
| Lactosa                  | 10.0 g   | Citrato férrico     | 1.0 g   |
| Mezcla de sales biliares | 8.5 g    | Rojo neutro         | 0.025 g |
| Verde brillante          | 0.0003 g | Agar bacteriológico | 13.5 g  |
| pH 7.0 ± 0.2 a 25°C      |          |                     |         |

## PREPARACIÓN

### *Método de preparación para el Agar XLD.*

Suspender 55 gramos del medio en un litro de agua purificada. Mezclar bien y calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C y vaciar en uno de los compartimentos de las placas dobles de Petri estériles.

### *Procedimiento*

1. Inocular las placas con la muestra previamente procesada de acuerdo a los procedimientos establecidos.
2. Incubar en condiciones aeróbicas a 35 ± 2° C de 18 a 24 horas.
3. Confirmar las colonias sospechosas con pruebas bioquímicas adicionales.

## Método de preparación para el Agar Salmonella Shigella.

Suspender 60 gramos del medio en un litro de agua purificada. Mezclar bien y calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. No esterilizar en autoclave. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C y vaciar en uno de los compartimentos de las placas dobles de Petri estériles.

## Procedimiento

1. Sembrar las muestras de acuerdo a los procedimientos internos de laboratorio o normas aplicables.
2. Incubar en condiciones aeróbicas las placas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  de 24 a 48 horas.

## CARACTERÍSTICAS

El crecimiento y la recuperación del **Agar XLD** se describe en la siguiente tabla:

| MICROORGANISMOS                                 | ATCC  | CRECIMIENTO        | COLOR DE LA COLONIA              | % DE RECUPERACIÓN |
|-------------------------------------------------|-------|--------------------|----------------------------------|-------------------|
| <i>Escherichia coli</i>                         | 25922 | Inhibición parcial | Amarillo a rosas con precipitado | $\leq 25\%$       |
| <i>Shigella flexneri</i>                        | 12022 | Bueno              | Rojas transparentes              | $\leq 50\%$       |
| <i>Salmonella enterica</i> serotipo Typhimurium | 14028 | Bueno              | Rojas con centro negro           | $\leq 50\%$       |
| <i>Enterococcus faecalis</i>                    | 29212 | Inhibición total   | -                                | 0%                |

El crecimiento y la recuperación del **Agar Salmonella Shigella** se describe en la siguiente tabla:

| MICROORGANISMOS                                 | ATCC  | CRECIMIENTO        | CARACTERÍSTICA DE LA COLONIA                  | INOCULO cfu/mL  | % DE RECUPERACIÓN |
|-------------------------------------------------|-------|--------------------|-----------------------------------------------|-----------------|-------------------|
| <i>Shigella flexneri</i>                        | 12022 | Bueno              | Incolora, transparente                        | $\leq 100$      | $\geq 80\%$       |
| <i>Salmonella entérica</i> serotipo Typhimurium | 14028 | Bueno              | Incolora, transparente con centro negro       | $\leq 100$      | $\geq 80\%$       |
| <i>Salmonella entérica</i> serotipo Typhi       | 19430 | Bueno              | Incolora, transparente con o sin centro negro | $\leq 100$      | $\geq 80\%$       |
| <i>Escherichia coli</i>                         | 25922 | Inhibición parcial | Rosa, con zona de precipitado rosa            | $10^4$ - $10^6$ | $\leq 25\%$       |
| <i>Enterococcus faecalis</i>                    | 29212 | Inhibido           | -                                             | $10^4$ - $10^6$ | -                 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                    | 25923 | Inhibido           | -                                             | $10^4$ - $10^6$ | -                 |

## PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

| CAT. No                                                                           | PRESENTACIÓN                                                 | ALMACENAMIENTO |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------|
| 7774                                                                              | Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas con dos divisiones) | 2-8°C          |
|  |                                                              |                |

## BIBLIOGRAFÍA

1. Leifson, E. 1935. New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J. Pathol. Bacteriol. 40:581
2. Hormache. E., N.L. Surraco, C.A. Peluffo, and P.L., Aleppo. 1943. Causes of infantile summer diarrhea. Am. J. Dis. Child 66:539-551.
3. Taylor and Harris. 1965. Am. J. Clin. Pathol. 44:476
4. Mac Faddin., J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Vol. I Williams & Wilkins, Baltimore, M.D.
5. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology. Washington D.C.
6. Pollock and Dahlgren. 1974. Appl. Microbiol. 27:197.
7. Koneman E. Allen S. 2008 Koneman diagnostic microbiológico: texto y atlas en color Ed. Médica Panamericana. Pag. 213.
8. Taylor, W. I. 1965. Isolation of shigellae. I. Xylose lysine agars; new media for isolation of enteric pathogens. Am. J. Clin. Pathol. 44(4): 471-475.
9. Rollender, W., O. Beckford, R.D. Belsky, and B. Kostroff. 1969. Comparison of xylose lysine deoxycholate agar and MacConkey agar for the isolation of Salmonella and Shigella from clinical specimens. Tech. Bull. Reg. Med. Tech. 39(1):8-10.
10. Pollock, H.M., and B.J. Dahlgren. 1974. Clinical evaluation of enteric media in the primary isolation of Salmonella and Shigella. Appl. Microbiol. 27(1): 197-201.
11. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos: Suplemento para Dispositivos Médicos. 3a. Ed. -- México: Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2014.