

Agar Salmonella Shigella / Agar Verde Brillante

USO

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

Agar Verde Brillante es un medio selectivo para el aislamiento de enterobacterias patógenas principalmente *Salmonella enterica* diferente al serotipo Typhi a partir de muestras clínicas y de alimentos.

EXPLICACIÓN

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 H₂S 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.

Agar Verde Brillante, es utilizado cuando se quiere investigar la presencia de especies de *Salmonella* diferentes a *Salmonella enterica* serotipo Typhi y *S. enterica* serotipo Paratyphi, se recomienda el uso en paralelo de medios con selectividad moderada, tales como Agar EMB, agar Mac Conkey, Agar Salmonella Shigella, Agar XLD o Agar Entérico Hektoen. La mezcla de peptonas y el extracto de levadura proporcionan la fuente de nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos. La lactosa y la sacarosa son los carbohidratos fermentables. El rojo de fenol es un indicador de las variaciones de pH, que permite el cambio de color del medio a amarillo en presencia del ácido derivado de la fermentación de los carbohidratos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El verde brillante actúa como inhibidor de bacterias Gram-positivas y de la mayoría de bacterias Gram-negativas diferentes a *Salmonella spp.* El agar es adicionado como agente gelificante.

FÓRMULA POR LITRO

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

Agar Verde Brillante

Extracto de levadura	3.0 g	Verde brillante	0.0125 g
Mezcla de peptonas	10.0 g	Cloruro de sodio	5.0 g
Lactosa	10.0 g	Rojo de fenol	0.08 g
Sacarosa	10.0 g	Agar bacteriológico	20.0 g

pH 6.9 ± 0.2 a 25°C

PREPARACIÓN

Método para la preparación de Agar Salmonella y 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 ± 2°C de 24 a 48 horas.

Método para la preparación Agar Verde Brillante

Suspender 58 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. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. 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. En caso de no obtener crecimiento, incubar por 24 horas más.

CARACTERÍSTICAS

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	≤ 100	$\geq 80\%$
<i>Salmonella entérica</i> serotipo Typhimurium	14028	Bueno	Incolora, transparente con centro negro	≤ 100	$\geq 80\%$
<i>Salmonella entérica</i> serotipo Typhi	19430	Bueno	Incolora, transparente con o sin centro negro	≤ 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	-

El crecimiento, color de la colonia y recuperación del **Agar Verde Brillante** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	COLOR DE LA COLONIA	INOCULO ufc/ml	% DE RECUPERACIÓN
<i>Salmonella enterica</i> serotipo Typhimurium	14028	Bueno	Rosa a rojo	10^3 - 10^4	$\geq 80\%$
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Inhibición parcial	Rosa a rojo, pueden presentar swarming	10^3 - 10^4	$\leq 25\%$
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibición parcial	Amarillas a verdes	10^3 - 10^4	$\leq 25\%$
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Inhibición total	-	10^3 - 10^4	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Inhibición total	-	10^3 - 10^4	-

PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

CAT. No	PRESENTACIÓN	ALMACENAMIENTO
7784	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 diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color Ed. Médica Panamericana. Pag. 213.
8. Kristensen, M., V., Lester, and A. Jurgens 1925. *On the use of trypticized casein, brom thymol blue, brom cresol purple phenol red and brilliant green for bacteriological nutrient media*, *Br. J. Exp. Pathol.* 6:291.
9. Kauffman, F. 1935. *Weitere Erfahrungen mit der kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonella bacillen*. *Z. Hyg. Infektionskr.* 117:26
10. Galton., M. M., and M.S. Quan. 1994. *Salmonella isolated in Florida during 1943 with the combined enrichment method of Kauffman*. *AM. J. Public. Health.* 34:1017.
11. Downes and Ito. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
12. United States Pharmacopeial Convention, Inc. 2001. The United States pharmacopeia 25/ The national formulary 20 - 2002. United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, Md.
13. Song Y., Roumagna P., Weill F-X., Wain J., Dolecek C., Mazzoni C.J., Holt K.E., y Achtman M. 2010 A multiplex single nucleotide polymorphism typing assay for detecting mutations that result in decreased fluoroquinolone susceptibility in *Salmonella* enteric serovars Typhi and Paratyphi A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. vOL. 65 1631-1641.
14. Jarvik T., Smillie C., Groisman E. A. y Ochman H. 2010 Short-Term Signatures of Evolutionary Change in the *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium 14028 Genome. *Journal of Bacteriology*. Vol. 192 No. 2 560-567.
15. Porwollik S. 2011 *Salmonella: From Genome to Function*. Ed. Ilustrada Horizon Scientific. Press. 300 pags.
16. 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.