

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

USO PREVISTO

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) (agar DCLS, modificado / agar entérico Hektoen BD [biplaca]) se utiliza para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras fecales humanas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

DCLS Agar, Modified es una modificación de los medios de agar citrato desoxicolato descritos por Leifson¹. Generalmente se inhiben los organismos coliformes capaces de fermentar la lactosa o la sacarosa. Se suprimen las bacterias gram positivas. Mientras estudiaban patógenos entéricos en el medio Endo, Holt-Harris y Teague utilizaron lactosa y sacarosa para desarrollar un agar nutritivo con azul de metileno y eosina. Algunos organismos coliformes fermentan la sacarosa más fácilmente que la lactosa². La adición de sacarosa permite que los organismos no patógenos fermentadores de sacarosa produzcan colonias de color rojo rosado (rosa) fácilmente reconocidas, lo que reduce el número de reacciones positivas falsas.

Existen varias modificaciones de la fórmula original del DCLS Agar^{3,4}. La fórmula de este medio contiene más lactosa y sacarosa y menos citrato y, por tanto, favorece el crecimiento de *Shigella* un poco mejor que el DCLS Agar común. Además, permite la detección de *Yersinia enterocolitica*.

En DCLS Agar, Modified, el extracto de carne y la peptona suministran nitrógeno, mientras que el extracto de levadura proporciona vitaminas. La lactosa y la sacarosa son carbohidratos fermentables utilizados por numerosos bacilos no patógenos gram negativos, tales como *Escherichia coli*, pero no *Salmonella* ni *Shigella*. El citrato, tiosulfato y desoxicolato de sodio son agentes selectivos. El rojo neutro es un indicador del pH.

King y Metzger del Instituto Hektoen desarrollaron en 1967 el agar entérico Hektoen (HEA) con el objetivo de mejorar el aislamiento de los organismos *Shigella* y *Salmonella* en comparación con otros medios que entonces se utilizaban frecuentemente⁵. Este medio se considera moderadamente selectivo y es útil en especial para el aislamiento de las especies de *Shigella*. La presente formulación difiere de la original en la eliminación del desoxicolato de sodio y la reducción de la concentración de sales biliares. Además, se ha incrementado la concentración de peptonas para compensar los efectos inhibidores de las sales biliares³. Las sales biliares hacen que el medio sea selectivo, inhiba los microorganismos gram positivos y reduzca el crecimiento de algunas bacterias gram negativas diferentes de *Salmonella* y *Shigella*. Se incluyen lactosa, sacarosa y salicina para una óptima diferenciación según el color de las colonias y del medio adyacente a éstas. *Salmonella* y *Shigella* no fermentan estos compuestos de carbono y, por tanto, no ocasionan un cambio de color en el sistema indicador de pH, en tanto que los organismos que fermentan uno o más de tales compuestos hasta convertirlos en ácidos (por ejemplo, *E. coli*), causan un cambio de color a amarillo, anaranjado o salmón. El citrato férrico de amonio y el tiosulfato sódico del medio permiten detectar la producción de sulfuro de hidrógeno por la *Salmonella*. El sistema indicador del pH está formado por fucsina ácida y azul de bromotimol. Se recomienda esta fórmula como uno de varios medios en placa para el cultivo de *Enterobacteriaceae* a partir de muestras fecales⁶⁻⁸.

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) es una combinación de dos medios selectivos de diferenciación para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* a partir de las muestras fecales humanas.

REACTIVOS

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

Fórmulas* por litro de agua purificada

DCLS Agar, Modified		Hektoen Enteric Agar	
Peptona de carne (pancreática)	5,0 g	Digerido péptico de tejido animal	12,0 g
Extracto de levadura	2,5	Extracto de levadura	3,0
Extracto de carne	2,5	Sales biliares	9,0
Lactosa	10,0	Lactosa	12,0
sacarosa	10,0	sacarosa	12,0
Citrato férrico de amonio	1,0	Salicina	2,0
Desoxicolato de sodio	2,5	Cloruro sódico	5,0
Tiosulfato sódico	5,0	Tiosulfato sódico	5,0
Citrato sódico	1,0	Citrato férrico de amonio	1,5
Rojo neutro	0,02	Azul de bromotimol	0,064
Agar	10,0	Fucsina ácida	0,1
pH 7,5 ± 0,2		Agar	13,5
		pH 7,6 ± 0,2	

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C, en su envase original hasta momentos antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia. De vez en cuando, las especies de *Shigella* pueden requerir una incubación de 42 a 48 h.

Examinar las placas después de 18 – 24 y 42 – 48 h para comprobar la extensión del crecimiento, el tamaño de las colonias, la pigmentación y la selectividad.

Cepas	DCLS Agar, Modified	Hektoen Enteric Agar
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ausencia de crecimiento a crecimiento promedio; colonias de color rojo rosado (rosa), puede haber precipitados a su alrededor.	Inhibición parcial o completa; colonias de color amarillo anaranjado, puede haber precipitados a su alrededor, halos de color de salmón a naranja
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición completa	Inhibición parcial o completa; pequeñas colonias amarillas, halos de color de salmón a naranja
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Colonias de color rojo anaranjado; crecimiento de aceptable a bueno	Azul verdoso a azul con centros de color negro
<i>Salmonella</i> Abony DSM 4224	Colonias de color rojo anaranjado a amarillo; crecimiento de bueno a excelente	Crecimiento bueno o excelente; colonias de color verde a azul verdoso con centro negro
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Colonias de color rojo anaranjado a amarillo; crecimiento de bueno a excelente	Crecimiento bueno o excelente; colonias de color verde a azul verdoso con centro negro
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Colonias de color rojo anaranjado a amarillo; crecimiento de aceptable a excelente	Crecimiento de bueno a excelente; colonias verde claro
Sin inocular	Colonias de color anaranjado rojizo, ligeramente opalescentes	Color verde, casi transparente

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (biplacas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Este medio se utiliza para muestras fecales de pacientes en quienes se sospecha una infección bacteriana entérica y para materiales similares, por ejemplo, torundas rectales (véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**)^{7,8}.

Procedimiento de análisis

Extender las muestras en ambos medios de esta biplaca tan pronto como sea posible después de recibirlas en el laboratorio. La placa de extensión se utiliza principalmente para aislar los cultivos puros de las muestras con flora mixta. Si, por el contrario, el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, extendiendo luego para hacer el aislamiento a partir de las áreas inoculadas.

Además, es preciso inocular un medio menos selectivo como el **BD MacConkey II Agar** y medios líquidos de enriquecimiento selectivo, p. ej. Selenite F Broth, a fin de incrementar la posibilidad de recuperación cuando la población de microorganismos gram negativos sea escasa y de proporcionar una indicación sobre otros microorganismos presentes en la muestra. Una explicación detallada sobre el aislamiento y la identificación de los patógenos entéricos en las muestras clínicas puede obtenerse consultando los procedimientos descritos en las referencias correspondientes⁶⁻⁸.

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) pueden utilizarse como medios para el subcultivo a partir de caldo Selenite F.

Incubar las placas, protegidas de la luz, a una temperatura de 35 ± 2 °C durante un período de 18 a 24 h. En caso negativo, incubar nuevamente durante 18 a 24 horas más.

Resultados

A continuación se detalla el aspecto del crecimiento característico en **BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)**:

Organismos	DCLS Agar, Modified	Hektoen Enteric Agar
<i>E. coli</i>	Colonias grandes, planas, de color rosa o rojo con una zona de precipitación biliar	Colonias grandes, color amarillo o salmón; pueden inhibirse algunas cepas
<i>Enterobacter/Klebsiella</i>	Colonias grandes, mucoides, de color rosa	Colonias grandes, color amarillo o salmón
<i>Proteus</i>	Colonias de incoloras a rojas	Colonias variables, color azul verdoso, azul o salmón, la mayoría de las cepas tienen centro negro
<i>Salmonella</i>	Colonias desde incoloras hasta rosa pálido	Colonias de color azul verdoso, azul o salmón, la mayoría de las cepas tienen centro negro
<i>Shigella</i>	Colonias desde incoloras hasta rosa pálido	Colonias elevadas, verdes y húmedas
<i>Pseudomonas</i>	Colonias desde incoloras hasta marrón o verde	Colonias irregulares, de color verde a marrón
Gram positivos	Sin crecimiento	Crecimiento escaso o nulo

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate) se utiliza para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* a partir de muestras fecales humanas y torundas rectales^{3,6-9}.

Si el número de patógenos en una muestra es bajo, es posible no detectarlos en medios altamente selectivos. Se recomienda incluir un medio con un nivel de selectividad menor, por ejemplo **BD MacConkey II Agar** y/o un enriquecimiento selectivo líquido⁶⁻⁸.

En estos medios, las colonias de *Proteus mirabilis* pueden asemejarse a colonias de *Salmonella*. Algunas cepas de *Shigella* pueden necesitar de 42 a 48 h de incubación.

Aunque ciertas pruebas diagnósticas pueden efectuarse directamente en estos medios, para lograr una identificación completa se necesitan pruebas bioquímicas, y (si así se indica), pruebas inmunológicas usando cultivos puros.

Las colonias presuntivas de *Salmonella* o *Shigella* deben confirmarse e identificarse mediante pruebas serológicas⁶.

Dado que los requisitos de nutrientes de los organismos son variados, es posible encontrar algunas cepas que presenten un crecimiento nulo o escaso en estos medios.

REFERENCIAS

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. 40:581-599.
2. Holt-Harris, J. E., and O. Teague. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosus* from stools. J. Infect. Dis. 18:596-601.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Hajna, A. A., and S. R. Damon. 1956. New enrichment and plating medium for the isolation of *Salmonella* and *Shigella* organisms. Appl. Microbiol. 4: 341.
5. King, S., and W.I. Metzger. 1968. A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. I. Hektoen enteric agar. Appl. Microbiol. 16:577-578.
6. Bopp, C.A., Brenner, F.W., Fields, P.I., Wells, J.G., and N.A. Strockbine. 2003. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover

(ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

9. Kist, M., et al. 2000. Infektionen des Darmes. *In*: Mauch, H., Lüttiken, R., and S. Gatermann (eds.): MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 9. Urban & Fischer, Munich, Germany.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD DCLS Agar, Modified / Hektoen Enteric Agar (Biplate)

Nº de cat. 254553 Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company