

BD Hektoen Enteric Agar (HE Agar)

USO PREVISTO

BD Hektoen Enteric Agar è un terreno moderatamente selettivo e differenziale utilizzato per l'isolamento e la coltura di microrganismi enterici Gram-negativi, in particolare per l'isolamento di specie di *Shigella* e *Salmonella* da campioni di feci.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

L'Hektoen Enteric Agar (HEA) è stato elaborato nel 1967 da King e Metzger del Hektoen Institute per migliorare l'isolamento di *Shigella* e *Salmonella* rispetto agli altri terreni utilizzati a quel tempo.^{1,2} Il terreno è considerato moderatamente selettivo ed è particolarmente utile per l'isolamento delle specie di *Shigella*. La formula attuale differisce da quella originaria perché è stato eliminato il sodio desossicolato ed è stata ridotta la concentrazione di sali biliari. Inoltre, è stata aumentata la concentrazione di peptoni per compensare gli effetti inibitori dei sali biliari.³ Questo preparato è uno dei numerosi terreni su piastra raccomandati per la coltura di *Enterobacteriaceae* da campioni fecali.⁴⁻⁶

I sali biliari rendono il terreno selettivo, inibendo gli organismi Gram-positivi e riducendo la crescita di alcuni organismi Gram-negativi, a parte le *Salmonella* e *Shigella*. Lattosio, saccarosio e salicina vengono aggiunti per favorire la differenziazione in quanto colorano le colonie e il terreno adiacente. *Salmonella* e *Shigella* non fermentano questi composti di carbonio e quindi non modificano il colore degli indicatori di pH, mentre gli organismi che fermentano questi composti in acidi, ad es. *E. coli*, modificano il colore in giallo o arancione. Il citrato di ammonio ferrico e il tiosolfato di sodio nel terreno consentono di rilevare il solfuro di idrogeno prodotto dalla *Salmonella*. Il sistema di indicatori del pH è costituito dalla fucsina acida e dal blu bromotimolo.

REAGENTI

BD Hektoen Enteric Agar

Formula* per litro di acqua purificata

Digerito peptico di tessuto animale	12,0 g	Cloruro di sodio	5,0 g
Estratto di lievito	3,0	Tiosolfato di sodio	5,0
Sali biliari	9,0	Citrato di ammonio ferrico	1,5
Lattosio	12,0	Blu bromotimolo	0,065
Saccarosio	12,0	Fucsina acida	0,1
Salicina	2,0	Agar	14,0

pH 7,6 +/- 0,2

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale. 

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento, incrinature o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni aseptiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre al buio a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per ulteriori informazioni, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le piastre a 35 ± 2 °C in atmosfera aerobica. Esaminare le piastre dopo 18 – 24 h per valutare il livello di crescita, le dimensioni delle colonie, la pigmentazione e la selettività. Se il risultato è negativo, incubare di nuovo per altre 18 – 24 h.

Ceppi	Risultati della crescita
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC™ 14028	Crescita da buona a eccellente, colonie da verde a verdazzurro con area centrale nera
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crescita da buona a eccellente, colonie verde chiaro
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	Crescita da buona a eccellente, colonie verde chiaro
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione da parziale a completa, colonie giallo-arancione, eventualmente circondate da precipitato di bile e alone colore salmone o arancione
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inibizione da parziale a completa, piccole colonie gialle, con alone colore salmone o arancione
Non inoculate	Verdi, quasi trasparenti

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Hektoen Enteric Agar (piastre impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

Il terreno viene usato per i campioni fecali di pazienti presumibilmente affetti da infezione enterobatterica, per materiali simili (ad es. tamponi rettali) e per campioni alimentari (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Strisciare il campione non appena viene consegnato in laboratorio. La piastra strisciata è utilizzata prevalentemente per isolare le colture pure dai campioni contenenti flora mista. In alternativa, se il materiale in coltura proviene direttamente da un tampone, rotolare il tampone su una piccola area del bordo e strisciare da questa zona inoculata per l'isolamento.

Inoculare anche un terreno meno selettivo, come **BD MacConkey II Agar**, e un terreno di arricchimento liquido selettivo, come il brodo Selenite-F, per aumentare le possibilità di isolamento quando la popolazione di organismi Gram-negativi è ridotta e per fornire delle indicazioni sugli altri organismi presenti nel campione. Per una disamina esaustiva sull'isolamento e l'identificazione dei patogeni enterici nei campioni clinici, consultare le procedure descritte nelle relative voci della bibliografia.⁴

BD Hektoen Enteric Agar può essere usato come terreno per le sottocolture del brodo Selenite-F.

Incubare le piastre, schermate dalla luce, a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h. Se il risultato è negativo, incubare di nuovo per altre 18 – 24 h.

Risultati

La morfologia tipica delle colonie su **BD Hektoen Enteric Agar** è la seguente:

Organismi	Risultati della crescita
<i>E. coli</i>	Grandi, da giallo a colore salmone, alcuni ceppi possono essere inibiti
<i>Enterobacter/Klebsiella</i>	Grandi, da giallo a colore salmone
<i>Proteus</i>	Variabili, da verdazzurro a blu o salmone, la maggior parte dei ceppi hanno area centrale nera o sono completamente neri
<i>Salmonella</i>	Da verdazzurro a blu, la maggior parte dei ceppi hanno area centrale nera o sono completamente neri
<i>Shigella</i>	Verdi e umide, sollevate
<i>Pseudomonas</i>	Irregolari, da verde a marrone
Batteri Gram-positivi	Da nessuna crescita a lieve crescita

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Questo terreno viene normalmente raccomandato per l'isolamento di *Salmonella* e *Shigella* nei campioni fecali umani o tamponi rettali.³⁻⁶

Un solo terreno è raramente in grado di isolare tutti i patogeni contenuti in un campione. Pertanto, inoculare con il campione ulteriori terreni per isolare *Salmonella* e/o *Shigella* ed eventualmente altri patogeni enterici.⁵

Su questo terreno, le colonie di *Proteus mirabilis* possono essere confuse con la *Salmonella*. Alcuni ceppi di *Shigella* possono richiedere un'incubazione di 42 – 48 h.

Benché sia possibile eseguire alcuni test diagnostici direttamente sul terreno, per un'identificazione completa è necessario effettuare test biochimici e, all'occorrenza, immunologici usando colture pure. Confermare e identificare biochimicamente e sierologicamente le colonie che appaiono come *Salmonella* o *Shigella*.⁴

BIBLIOGRAFIA

1. 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.
2. King, S., and W.I. Metzger. 1968. A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparison of Hektoen enteric agar with SS and EMB agar. Appl. Microbiol. 16:579-581.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. 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.
5. 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.
6. Kist, M. et al. 2000. Infektionen des Darmes. In: MIQ – Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Vol 9. Urban und Fischer, München, Jena.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Hektoen Enteric Agar

N. di cat. 254009

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

N. di cat. 254075

Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 120

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD