BD Hektoen Enteric Agar (HE Agar)

PRZEZNACZENIE

BD Hektoen Enteric Agar jest umiarkowanie selektywnym i różnicującym podłożem przeznaczonym do izolowania i hodowania Gram-ujemnych mikroorganizmów jelitowych, a zwłaszcza do izolacji gatunków *Shigella* i *Salmonella* z próbek kału.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.
Podłoże Hektoen Enteric Agar (HEA) zostało opracowane w 1967 r. przez Kinga i Metzgera z Instytutu Hektoen jako materiał do izolowania bakterii *Shigella* i *Salmonella* lepszy niż inne, często wówczas używane pożywki.[1,2] Podłoże uważa się za umiarkowanie selektywne, szczególnie przydatne do izolowania gatunków z rodzaju *Shigella*. Obecny skład podłoża różni się od oryginalnego brakiem dezoksycholanu sodu oraz zmniejszonym stężeniem soli żółciowych. Ponadto zwiększono stężenie peptonów w celu wyrównania hamującego działania soli żółciowych.[3] Taki skład jest zalecany jako jedno z podłoży na płytkach do hodowli *Enterobacteriaceae* z próbek kału.[4-6]

Dzięki solom żółciowym podłoże to jest selektywne – hamuje wzrost drobnoustrojów Gram-dodatnich i redukuje wzrost niektórych bakterii Gram-ujemnych, takich jak *Salmonella* i *Shigella*. W celu optymalizacji różnicowania na podstawie zabarwienia kolonii i ich otoczenia, do podłoża dodaje się także laktozę, sacharozę i salicynę. Szczepy *Salmonella* i *Shigella* nie są zdolne do fermentacji tych związków węgla, w związku z czym nie powodują zmiany koloru układu wskaźników odczynu pH, natomiast organizmy fermentujące jeden lub kilka spośród wymienionych składników do kwasów, np. *E. coli*, powodują zmianę zabarwienia na żółte lub pomarańczowe. Zawarty w podłożu cytrynian amonu żelaza (III) i tiosiarczan sodu umożliwiają wykrycie wytwarzania siarkowodoru przez *Salmonella*. Układ wskaźników pH składa się z fuksyny kwaśnej i błękitu bromotymolowego.

ODCZYNNIKI

BD Hektoen Enteric Agar
Skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	12,0 g	Chlorek sodu	5,0 g
Wyciąg drożdżowy	3,0	Tiosiarczan sodu	5,0
Sole żółciowe	9,0	Cytrynian amonu żelaza (III)	1,5
Laktoza	12,0	Błękit bromotymolowy	0,065
Sacharoza	12,0	Fuksyna kwaśna	0,1
Salicyna	2,0	Agar	14,0

pH 7,6 ± 0,2
*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.
Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne objawy świadczące o skażeniu mikrobiologicznym, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości. Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**.

PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania. Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.
Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Na płytki posiewa się próbki reprezentatywne niżej wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**). Płytki inkubuje się w temperaturze 35 ± 2°C w atmosferze tlenowej.
Płytki należy badać po 18–24 godz., oceniając stopień wzrostu, wielkość kolonii, zabarwienie i selektywność. W przypadku ujemnego wyniku posiewu płytki należy inkubować przez kolejne 18–24 godziny.

Szczepy bakteryjne	**Wzrost**
Salmonella Typhimurium ATCC 14028	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie zielone do niebieskozielonych z czarnym środkiem
Shigella flexneri ATCC 12022	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie jasnozielone
Shigella sonnei ATCC 25931	Wzrost dobry lub bardzo dobry; kolonie jasnozielone
Escherichia coli ATCC 25922	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu; kolonie żółtopomarańczowe, wokół kolonii może występować osad soli żółciowych, obwódki łososiowe do pomarańczowych
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu; kolonie małe, żółte, obwódki łososiowe do pomarańczowych
Bez posiewu	Zielone, niemal przezroczyste

PROCEDURA

Dostarczane materiały

Podłoże **BD Hektoen Enteric Agar** (płytki **Stacker** o śr. 90 mm). Sprawdzane pod kątem obecności mikroorganizmów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek

Opisywane podłoże jest przeznaczone do hodowli z próbek kału pochodzących od pacjentów z podejrzeniem bakteryjnego zakażenia jelit i z podobnych materiałów (np. wymazów z odbytu), jak również do hodowli z próbek pokarmów (zobacz także **CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY**).

Procedura testowa

Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium. Płytka do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych kultur z próbek zawierających florę mieszaną. Ewentualnie, jeżeli materiał jest posiewany bezpośrednio z wymazówki, należy przetoczyć wymazówkę po niewielkiej powierzchni na krawędzi płytki, a następnie wykonać posiew przez rozprowadzenie po podłożu.
Należy także wykonać posiew na podłożu mniej selektywnym (np. **BD MacConkey II Agar**) oraz na selektywnej płynnej pożywce wzbogacającej (np. Selenite F Broth) w celu zwiększenia prawdopodobieństwa wyhodowania drobnoustrojów w przypadku, gdy populacja bakterii Gram-ujemnych jest mała, a także w celu wykrycia innych organizmów występujących w próbce. Pełne omówienie technik izolowania i identyfikacji patogenów jelitowych z próbek klinicznych przedstawiono w poniższych publikacjach.[4]

Podłoże **BD Hektoen Enteric Agar** może być wykorzystywane do wykonywania kolejnych posiewów z pożywki Selenite F Broth.
Płytki inkubować bez dostępu światła w temperaturze 35 ± 2°C przez okres 18–24 godz. W przypadku ujemnego wyniku posiewu inkubować płytki przez kolejne 18–24 godziny.

Wyniki
Typowa morfologia kolonii otrzymywanych na podłożu **BD Hektoen Enteric Agar**:

Drobnoustroje	**Wzrost**
E. coli	Duże, barwa żółta do łososiowej; niektóre szczepy mogą ulegać zahamowaniu
Enterobacter/Klebsiella	Duże, barwa żółta do łososiowej
Proteus	Zmienne, barwa niebieskozielona do niebieskiej lub łososiowa, większość szczepów z czarnym środkiem lub całe kolonie czarne
Salmonella	Barwa niebieskozielona do niebieskiej; większość szczepów z czarnym środkiem lub całe kolonie czarne
Shigella	Zielone i wilgotne, uniesione
Pseudomonas	Nieregularne, barwa zielona do brązowej
Bakterie Gram-dodatnie	Brak wzrostu lub śladowy wzrost.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

Opisywana pożywka jest zalecanym standardowym podłożem do izolowania *Salmonella* i *Shigella* z próbek kału ludzkiego lub wymazów z odbytu.[3-6]
Pojedyncze podłoże rzadko umożliwia wykrycie wszystkich patogenów występujących w próbce. W związku z tym próbkę należy posiać także na inne podłoża do izolowania *Salmonella* i (lub) *Shigella* oraz ewentualnie innych patogenów jelitowych.[5]
Kolonie *Proteus mirabilis* mogą przypominać na tym podłożu kolonie *Salmonella*.
Niektóre szczepy *Shigella* mogą wymagać inkubacji przez 42–48 godz.
Wprawdzie pewne testy diagnostyczne można wykonywać bezpośrednio na opisywanym podłożu, jednak w celu przeprowadzenia pełnej identyfikacji konieczne jest wykonanie badania biochemicznego oraz, jeśli jest to wskazane, również badania immunologicznego z użyciem czystych hodowli. Kolonie przypominające *Salmonella* lub *Shigella* należy potwierdzić oraz zidentyfikować biochemicznie i serologicznie.[4]

PIŚMIENNICTWO

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. Yolken (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. Yolken (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.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD Hektoen Enteric Agar

Nr katalogowy 254009	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 płytek
Nr katalogowy 254075	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 120 płytek

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem firmy BD.

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