



Hektoen Enteric Agar

Selective and differential medium for detection of pathogenic intestinal bacteria from food and clinical specimens, according to ISO 21567.

DESCRIPTION

Hektoen Enteric Agar is a moderately selective medium used for the isolation and cultivation of Gram-negative enteric microorganisms, especially *Shigella* spp, from faeces, foodstuffs and other materials of sanitary importance.

This medium meets the requirements of the APHA and ISO 21567 for the isolation and differentiation of *Salmonella* and *Shigella* spp.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Enzymatic Digest of Meat	12.0
Yeast Extract	3.0
Lactose	12.0
Saccharose	12.0
Salicin	2.0
Bile Salts No. 3	9.0
Sodium Chloride	5.0
Sodium Thiosulfate	5.0
Ammonium Ferric Citrate	1.5
Acid Fuchsin	0.1
Bromothymol Blue	0.065
Agar	15.0
Final pH 7.5 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of meat provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Lactose, saccharose and salicin are fermentable carbohydrates. Bile salts and acid fuchsin inhibit Gram-positive organisms. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Ammonium ferric citrate and sodium thiosulfate enable the detection of hydrogen sulfide production. Bromothymol blue together with acid fuchsin act are the pH indicator system. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

<u>Dehydrated medium</u>	Suspend 76 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. DO NOT AUTOCLAVE.
<u>Medium in bottles</u>	Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

TEST PROCEDURE

Inoculate the plates by directly streaking the specimen on the agar surface or spread the sample from an enrichment culture. Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 h

INTERPRETING RESULTS

Shigella and *Providencia* spp, form green, moist colonies.

Salmonella and *Proteus* spp, grow as blue-green colonies, with or without black center due to H₂S production.

Coliforms, which are mostly rapid lactose-saccharose-salicin fermenters, develop red-salmon colonies surrounded by a zone of bile precipitate.

Enterococci, Staphylococci and other Gram-positive bacteria are partially or completely inhibited.

Notice that further testing should be conducted to confirm the presumptive identification of organisms isolated on this medium.

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige.

Prepared medium: slightly opalescent, green.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.

Medium in bottles: 2 years.

Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 50-100 CFU

Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU

Incubation conditions: aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 hours.

QC Table.

Microorganism		Growth	Specification
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC® 14028	Good	Blue-green colonies with black centre
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022	Good	Green colonies
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Good	Blue-green colonies with black centre
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Good	Red-salmon colonies with zone of bile precipitate
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Partially to completely inhibited	Red-salmon colonies with or without zone of bile precipitate
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Inhibited	---

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.








BIBLIOGRAPHY

- ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.
- Perez J.M., P. Cavalli, C. Roure, R. Renac, Y. Gille, and A. M. Freydiere (2003) Comparison of Four Chromogenic Media and Hektoen Agar for Detection and Presumptive Identification of Salmonella Strains in Human Stools. J Clin Microbiol; 41(3):1130–1134.
- American Public Health Association (1992) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 3rd Edition. APHA Inc. Washington DC.
- Bisciello N.B. jr. and Schrade J.(1974) Evaluation of Hektoen Enteric Agar for the detection of Salmonella in foods and feeds. - Journ of AOAC; 57: 992-996.

PRESENTATION

		Contents	Ref.
Hektoen Enteric Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	10043
Hektoen Enteric Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates	10043*
Hektoen Enteric Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles	402230
Hektoen Enteric Agar	Bottles	6 x 200 ml bottles	412230
Hektoen Enteric Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610021
Hektoen Enteric Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620021
Hektoen Enteric Agar	Dehydrated medium	5 kg of powder	6100215

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro</i> Medical Diagnostic Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net



liofilchem@liofilchem.net



Hektoen Enteric Agar

Terreno selettivo e differenziale per la ricerca di batteri patogeni intestinali da alimenti e campioni clinici, secondo ISO 21567.

DESCRIZIONE

Hektoen Enteric Agar è un terreno moderatamente selettivo utilizzato per l'isolamento e la coltivazione di microrganismi Gram negativi enterici, soprattutto *Shigella* spp, da feci, alimenti ed altri materiali di importanza sanitaria

Questo terreno soddisfa i requisiti dettati dal APHA ed ISO 21567 per l'isolamento e la differenziazione di *Salmonella* e *Shigella* spp.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Enzimatico di Carne	12.0
Estratto di Lievito	3.0
Lattosio	12.0
Saccarosio	12.0
Salicina	2.0
Sali di Bile N. 3	9.0
Sodio Cloruro	5.0
Sodio Tiosolfato	5.0
Ammonio Citrato Ferrico	1.5
Fucsina acida	0.1
Blue di Bromotimolo	0.065
Agar	15.0

pH Finale 7.5 ± 0.2 a 25°C

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito enzimatico di carne fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo B. Lattosio, saccarosio e salicina sono i carboidrati fermentabili. Sali di bile e fucsina acida inibiscono i batteri Gram positivi. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Ammonio citrato ferrico e sodio tiosolfato permettono la determinazione della produzione di solfuro di idrogeno. Il blu di bromotimolo insieme con la fucsina acida costituiscono il sistema indicatore di pH. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 76 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire per ottenere la completa dissoluzione. NON AUTOCLAVARE.
<u>Terreno in flaconi</u>	Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con il tappo leggermente svitato) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare le piastre strisciando il campione clinico direttamente sulla superficie dell'agar o spatolare il materiale proveniente da una coltura di arricchimento. Incubare in atmosfera aerobica a 35 ± 2°C per 18-24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Shigella e *Providencia* spp, formano colonie verdi, umide.

Salmonella e *Proteus* spp, crescono come colonie blu-verdi, con o senza centro nero dovuto alla produzione di H₂S.

I coliformi, i quali per la maggior parte fermentano rapidamente lattosio, saccarosio e salicina sviluppano colonie di colore rosso-salmone circondate da un alone di precipitati di bile.

Enterococchi, Stafilococchi ed altri batteri Gram positivi risultano parzialmente o completamente inibiti.

Attenzione, test ulteriori dovrebbero essere effettuati per confermare l'identificazione presuntiva dei microrganismi isolati su questo terreno.

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.

Terreno preparato: verde, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le piastre pronte a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in flaconi: 2 anni.

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 50-100 UFC.

Inoculo per selettività: 10^4 - 10^6 UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 18-24 ore.

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Salmonella</i> Typhimurium	ATCC® 14028	Buona	Colonie blu-verdi con centro nero
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC® 12022	Buona	Colonie verdi
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 12453	Buona	Colonie blu-verdi con centro nero
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	Buona	Colonie rosso-salmone con precipitati di bile
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 8739	Da parzialmente a completamente inibita	Colonie rosso-salmone con o senza precipitati di bile
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	Inibita	Coloni molto piccole ed opache

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.








BIBLIOGRAFIA

- ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.
- Perez J.M., P. Cavalli, C. Roure, R. Renac, Y. Gille, and A. M. Freydiere (2003) Comparison of Four Chromogenic Media and Hektoen Agar for Detection and Presumptive Identification of Salmonella Strains in Human Stools. J Clin Microbiol; 41(3):1130-1134.
- American Public Health Association (1992) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 3rd Edition. APHA Inc. Washington DC.
- Bisciello N.B. jr. and Schrade J.(1974) Evaluation of Hektoen Enteric Agar for the detection of Salmonella in foods and feeds. - Journ of AOAC; 57: 992-996.

PRESENTAZIONE

		Contenuto	Ref.
Hektoen Enteric Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	10043
Hektoen Enteric Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	100 piastre	10043*
Hektoen Enteric Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml	402230
Hektoen Enteric Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 200 ml	412230
Hektoen Enteric Agar	Flaconi	500 g di polvere	610021
Hektoen Enteric Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620021
Hektoen Enteric Agar	Terreno disidratato	5 kg di polvere	6100215

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net

