



## BD Hektoen Enteric Agar (HE Agar)

### USO PREVISTO

**BD Hektoen Enteric Agar** es un medio moderadamente selectivo y de diferenciación para el aislamiento y el cultivo de microorganismos gram negativos entéricos, y especialmente para el aislamiento de especies de *Shigella* y *Salmonella* a partir de muestras fecales.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico

King y Metzger del Instituto Hektoen desarrollaron en 1967 el Agar entérico Hektoen (HEA) con objeto de mejorar el aislamiento de los microorganismos *Shigella* y *Salmonella* en comparación con otros medios que entonces se utilizaban frecuentemente<sup>1,2</sup>. Este medio se considera moderadamente selectivo y es particularmente útil 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, la concentración de peptona ha sido aumentada, a fin de compensar los efectos inhibitorios de las sales biliares<sup>3</sup>. Esta formulación se recomienda como uno de diversos medios de placas para el cultivo de la familia *Enterobacteriaceae* a partir de muestras fecales<sup>4-6</sup>.

Las sales biliares hacen que el medio sea selectivo, inhibiendo los microorganismos gram-positivos y reduciendo el crecimiento de algunos microorganismos gram-negativos 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. La *Salmonella* y la *Shigella* no fermentan estos compuestos de carbono y, por tanto, no ocasionan un cambio de color en el sistema indicador del pH, en tanto que los microorganismos como la *E. coli*, por ejemplo, que fermentan uno o más de tales compuestos hasta convertirlos en ácidos, causan un cambio de color a amarillo o anaranjado. 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 consta de fucsina ácida y azul de bromotimol.

### REACTIVOS

#### BD Hektoen Enteric Agar

Fórmula\* por litro de agua destilada

Digerido péptico de tejido animal	12,0 g	Cloruro sódico	5,0 g
Extracto de levadura	3,0	Tiosulfato sódico	5,0
Sales biliares	9,0	Citrato férrico de amonio	1,5
Lactosa	12,0	Azul de bromotimol	0,065
Sacarosa	12,0	Fucsina ácida	0,1
Salicina	2,0	Agar	14,0

pH 7,6 +/- 0,2

\*Ajustada o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

### PRECAUCIONES

**IVD** . Para uso exclusivo por parte de profesionales. Ⓢ

No usar placas que presenten señales de contaminación microbiana, decoloración, desecación, roturas u otras señales de deterioro.

Consultar en las **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO** los procedimientos de manipulación aséptica, peligros biológicos y eliminación del producto después de su uso.

## ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.

## CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las siguientes cepas (consultar las **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO** para obtener instrucciones detalladas). Incubar las placas a una temperatura de 35 ± 2 °C en un ambiente aerobio.

Examinar las placas después de 18 a 24 h para observar la proporción del crecimiento y el tamaño de las colonias, la pigmentación y la selectividad. Si son negativas, incubar nuevamente durante 18 a 24 horas más.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Crecimiento bueno o excelente; colonias de color verde a azul verdoso con centro negro
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Crecimiento bueno o excelente; colonias verde claro
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	Crecimiento bueno o excelente; colonias verde claro
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibición parcial o completa; colonias amarillo anaranjado, puede haber precipitados biliares alrededor de las mismas, halos desde salmón hasta naranja
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibición parcial o completa; pequeñas colonias amarillas, halos desde salmón hasta naranja
Sin inocular	Color verde, casi transparente

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

**BD Hektoen Enteric Agar** (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

### Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliares, reactivos y 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 (p. ej. torundas rectales), así como para muestras de alimentos (ver también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

### Procedimiento de análisis

Una vez recibida la muestra en el laboratorio, hacer el frotis tan pronto como sea posible. La placa de frotis se emplea sobre todo para aislar cultivos puros en muestras que contengan flora microbiana 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 esta área inoculada.

Además, es preciso inocular un medio menos selectivo como el **BD MacConkey II Agar** y medios líquidos de enriquecimiento selectivo, p. ej. caldo selenita F, a fin de incrementar la posibilidad de recuperación cuando la población de microorganismos gram-negativos sea escasa y de proveer 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 correspondientes<sup>4</sup>.

**BD Hektoen Enteric Agar** se puede utilizar como medio para subcultivos a partir de Selenite F Broth.

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

## Resultados

La siguiente es la morfología característica de las colonias en el **BD Hektoen Enteric Agar**:

Microorganismos	Resultados del crecimiento
<i>E. coli</i>	Colonias grandes, color amarillo o salmón; pueden inhibirse algunas cepas
<i>Enterobacter/Klebsiella</i>	Colonias grandes, color amarillo o salmón
<i>Proteus</i>	Colonias variables, color azul verdoso, azul o salmón, la mayoría de las cepas tienen centro negro o son totalmente de este color
<i>Salmonella</i>	Colonias de color azul verdoso o azul; la mayoría de las cepas tienen centro negro o son totalmente de este color
<i>Shigella</i>	Colonias elevadas, verdes y húmedas
<i>Pseudomonas</i>	Colonias irregulares, de color verde a marrón
Bacterias gram-positivas	Crecimiento nulo o escaso

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Éste es uno de los medios estándar recomendados para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* en muestras fecales o torundas rectales provenientes de humanos<sup>3-6</sup>.

Sólo en raras ocasiones es posible recuperar en un único medio a todos los patógenos contenidos en una muestra. En consecuencia, es preciso inocular con la muestra otros medios para el aislamiento de *Salmonella* o *Shigella* y posiblemente otros patógenos entéricos<sup>5</sup>.

En este medio las colonias de *Proteus mirabilis* pueden semejar las colonias de *Salmonella*. Ciertas cepas de *Shigella* pueden precisar 42 a 48 h de incubación.

Ciertas pruebas de diagnóstico pueden efectuarse directamente en este medio; no obstante, para lograr la identificación total se necesitan pruebas bioquímicas, y (si así se indica) pruebas inmunológicas usando cultivos puros. Es preciso confirmar e identificar bioquímica y serológicamente aquellas colonias que se sospecha corresponden a *Salmonella* o *Shigella*<sup>4</sup>.

## REFERENCIAS

- 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.
- 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.
- MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
- 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.
- 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.
- Kist, M. et al. 2000. Infektionen des Darmes. In: MIQ – Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Vol 9. Urban und Fischer, München, Jena.

## ENVASE Y DISPONIBILIDAD

### BD Hektoen Enteric Agar

Nº de cat. 254009

Medio en placas listo para su uso, 20 placas

Nº de cat. 254075

Medio en placas listo para su uso, 120 placas

## **INFORMACION ADICIONAL**

Para obtener más información, diríjase a su representante local de 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