

HEKTOEN ENTERIC AGAR

Terreno selettivo e differenziale in polvere e pronto all'uso
in piastra e flacone per l'isolamento di salmonelle e shigelle



HEA: colonie di *Salmonella* (colore nero) e di *E.coli* (color salmone)

FORMULA TIPICA (g/l)

Triptosio	12.000
Estratto di lievito	3.000
Sali biliari n° 3	9.000
Lattosio	12.000
Saccarosio	12.000
Salicina	2.000
Sodio cloruro	5.000
Sodio tiosolfato	5.000
Fe-Ammonio citrato	1.500
Agar	15.000
Blu di bromotimolo	0.065
Fucsina acida	0.100

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 76.6 g di polvere in 1000 ml di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, lasciar bollire 1-2 minuti e trasferire in piastre sterili. Non autoclavare.
pH finale 7.6 ± 0.2 .

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

In un bagnomaria termoregolato a 100°C introdurre i flaconi e riscaldare fino ad ebollizione ed a dissoluzione completa. Raffreddare a 45-50°C e versare in piastre sterili.
pH finale 7.6 ± 0.2 .

DESCRIZIONE ED IMPIEGO

Hektoen Enteric Agar è un terreno selettivo per l'isolamento e la differenziazione della flora intestinale Gram-negativa, preparato secondo la formula di King e Metzger .

Il terreno contiene, oltre ad una miscela di peptoni:

- carboidrati: lattosio, saccarosio e salicina;
- indicatori di pH: blu bromotimolo e fucsina acida;
- agenti selettivi: sali biliari n° 3
- indicatori di H₂S: sodio tiosolfato e ferro (ico) ammonio citrato.

Il terreno permette di distinguere facilmente la flora che fermenta lattosio, saccarosio e salicina, da quella che non fermenta tali zuccheri: King e Metzger affermano che *Salmonella arizonae* si comporta come non fermentante.

Con l'impiego dell'Hektoen Enteric Agar è possibile anche una primaria differenziazione, a livello culturale, tra *Salmonella* e *Shigella*.

Nella tabella sottostante sono indicate le caratteristiche colturali di alcuni microrganismi su Hektoen Enteric Agar dopo incubazione per 24 ore a 37°C.

Microrganismo	Caratteristiche colturali (HEA)
<i>Salmonella</i> spp.	colonie verde blu con o senza centro nero
<i>Salmonella typhi</i>	colonie verde blu senza centro nero
<i>Shigella</i> spp.	colonie verde chiaro, il terreno non vira al blu
<i>E.coli</i>	crescita scarsa, colonie rosso salmone
<i>Enterobacter</i> spp.	colonie rosso salmone
<i>Klebsiella</i> spp.	colonie rosso salmone
<i>Pseudomonas</i> spp.	colonie incolori tendenti al verde
<i>Proteus</i> spp. saccarosio/salicina fermentanti	colonie rosso salmone
<i>Proteus</i> spp. saccarosio/salicina non fermentanti	colonie verde blu con o senza centro nero
Batteri Gram positivi	crescita inibita

King e Metzger hanno sperimentato tale terreno, in paragone all'SS Agar e al Levine EMB Blue Agar, su circa 3.000 campioni di feci: sia in isolamento primario che dopo arricchimento in brodo selenito; l'Hektoen Enteric Agar ha dato risultati migliori dei terreni di confronto, soprattutto per quanto riguarda l'isolamento delle shigelle. Tali migliori risultati sono probabilmente da attribuire alla scarsa tossicità del sistema indicatore di pH e delle sostanze selettive oltre che alla quantità relativamente abbondante di peptoni e carboidrati presenti nel terreno. L'Hektoen Enteric Agar Biolife è stato impiegato da Silvia King per l'isolamento di salmonelle e shigelle dalle feci, con risultati ottimali.

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo produttività

S.typhimurium ATCC 13076*: crescita, colonie incolori con centro nero

S.flexneri ATCC 12022*: crescita, colonie incolori

Controllo selettività

E.coli ATCC 25922*: parzialmente inibito, crescita scarsa con colonie salmone

E.faecalis ATCC 29212*: inibito

Incubazione a 37°C per 24 ore

*Ceppi raccomandati da NCCLS M22-A2

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il terreno è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperta la confezione, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.). Conservare le piastre preparate in laboratorio per un massimo di 7 giorni a 2-8°C

Terreni pronti all'uso in flacone e piastra: conservare a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: il preparato qui descritto non è classificabile come pericoloso ai sensi della legislazione vigente ma contiene sali biliari e sodio tiosolfato (classificabili come Xi irritanti) ad una concentrazione >1% e come tale richiede la scheda di sicurezza, che deve essere consultata prima dell'uso. Come per tutti i terreni in polvere anche la sua manipolazione deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

Terreno pronto all'uso in piastra e flacone: I preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni ≥1%.

I prodotti qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare i materiali inoculati dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- King S. & Metzger W.L (1968) - A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. 1) Hektoen Enteric Agar. Appl. Microbiol., 16,577-578.
- King S. & Metzger, W.L. (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.
- King, S. (1968) - Comunicazione personale

