



AGAR HEKTOEN ENTERIC

Medio de cultivo HEKTOEN ENTERIC

INTRODUCCIÓN:

El medio **HEKTOEN ENTERIC** preparado por **MEDIBAC LAB** 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.

COMPONENTES

1. Funda por 10 unidades
2. Inserto

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

1. Asas Bacteriológicas
2. Guantes Estériles
3. Tapabocas
4. Estufa a 37°C
5. Mechero de Bunsen.

METODOLOGÍA:

Principio del método: El agar Hektoen fue desarrollado en 1967 con objeto de mejorar el aislamiento de los microorganismos *Shigella* y *Salmonella* en comparación con otros medios que entonces se utilizaban frecuentemente. 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. Esta formulación se recomienda como uno de diversos medios de placas para el cultivo de la familia **ENTEROBACTERIACEAE** a partir de muestras fecales.

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 incluye lactosa, sacarosa y salicina para una óptima diferenciación según el color de sus 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 de 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.

El agar HEKTOEN ENTERIC se prepara a partir del medio de cultivo deshidratado, materia prima producida por la casa **OXOID** y tiene la siguiente composición: g/l

Digerido péptico de tejido animal.....	12.0 g
Extracto de levadura.....	3.0 g
Sales biliares.....	9.0 g
Sacarosa.....	12.0 g
Lactosa.....	12.0 g
Salicina.....	2.0 g
Cloruro sódico.....	5.0 g
Tiosulfato sódico.....	5.0 g
Citrato férrico de amonio.....	1.5 g
Azul de bromotimol.....	0.065 g
Fucsina ácida.....	0.1 g
Agar.....	14.0 g

NO AUTOCLAVAR

CRITERIOS DE DESEMPEÑO Y LIMITACIONES DEL MÉTODO

El Agar HEKTOEN ENTERIC es uno de los medios estándar recomendados para el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella* en muestras fecales o torundas rectales provenientes de humanos.





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.

En este medio las colonias de Proteus mirabilis pueden semejar las colonias de Salmonella.

Ciertas cepas de Shigella pueden precisar 42 a 48 horas 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 sospechan corresponden a Salmonella o Shigella.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

La placa de agar HEKTOEN ENTERIC viene listo para ser utilizado.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS:

El medio agar HEKTOEN ENTERIC se deben colocar las placas en posición invertida para evitar que el agua de condensación pueda caer sobre la superficie del medio. Este producto debe manipularse con cuidado evitando movimientos bruscos o caídas que puedan resquebrajar la capa del medio.

De acuerdo al estudio (Condiciones de Almacenamiento de los Medios) realizados por Medibac Lab. Los medios de cultivos preparados para su transportación tienen una tolerancia de hasta 24 horas con una temperatura de 2 a 35°C, una vez llegado a su destino final el mismo debe ser almacenado a una temperatura de 4 a 8°C.

Nota: El producto debe evitar temperaturas inferiores a -0°C para evitar congelación del medio, lo que ocasionaría el deterioro del mismo, y evitar temperaturas superiores a 35°C para que no produzca condensación interna en la placa lo que podría afectar la fidelidad de los resultados.

Conservado en condiciones óptimas el medio es estable hasta la fecha de expiración señalada.

PROCEDIMIENTO:

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.

Recibida la muestra en el laboratorio, hacer el frotis tan pronto como sea posible. La placa del 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 Mac- Conkey Agar y medios líquidos de enriquecimiento selectivo, p. ej. Caldo selenito 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.

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

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS ANALÍTICOS:

La siguiente es la morfología característica de las colonias en el Hektoen Enteric Agar.

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

CONTROL DE CALIDAD:

El agar HEKTOEN ENTERIC tiene un estricto control de calidad a lo largo del proceso de producción. El producto final tiene un cuidadoso control para asegurar que cada lote llene las especificaciones del medio: Color, consistencia, tersura, esterilidad, pH.



ASPECTOS FISICOS DEL MEDIO		ESTADO
Apariencia	Medio solido de color verde oliva envasado en placa de petri.	CUMPLE
Color del medio solido	Verde oliva	CUMPLE
pH	7,4 - 7,7	7,5
Consistencia	La consistencia del medio debe ser ligeramente dura, para que permita la siembra de muestras sin romperse.	CUMPLE
Volumen del medio	18cc que deben dar con una capa de 4 - 5 mm de agar en placa de petri.	4,3 mm
Tersura	El medio debe ser completamente liso, no debe presentar rugosidad ni burbujas que dificulten la siembra.	CUMPLE
Esterilidad	El medio antes de usarse debe encontrarse libre de cualquier crecimiento microbiano	CUMPLE

El desempeño del medio se controla mediante el cultivo de cepas control ATCC de:

Escherichia coli 25922

Salmonella Typhimurium 14028

Enterococcus faecalis 29212

Proteuss mirabilis 12453

Para determinar calidad y características del crecimiento bacteriano que deben observarse en el medio.

VALOR DE REFERENCIA:

Este medio al usarse, debe ser estéril y permitir un desarrollo óptimo de las cepas de referencia.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

Ya que para la utilización de este medio se deben manipular muestra clínicas y microorganismos Patógenos, se deben guardar las más estrictas normas de asepsia y antisepsia, los cultivos una vez leídos deben esterilizarse y luego colocarse en bolsa roja identificada y entregada a la compañía especializada en recolección de productos biológicos de desecho.

Laboratorio Fabricante: Medibac

Química Responsable: Dra. Juana Cedeño Vélez.