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)

<table>
<thead>
<tr>
<th>Component</th>
<th>Amount</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Enzymatic Digest of Meat</td>
<td>12.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Yeast Extract</td>
<td>3.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Lactose</td>
<td>12.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Saccharose</td>
<td>12.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Salicin</td>
<td>2.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Bile Salts No. 3</td>
<td>9.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Sodium Chloride</td>
<td>5.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Sodium Thiosulfate</td>
<td>5.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Ammonium Ferric Citrate</td>
<td>1.5</td>
</tr>
<tr>
<td>Acid Fuchsin</td>
<td>0.1</td>
</tr>
<tr>
<td>Bromothymol Blue</td>
<td>0.065</td>
</tr>
<tr>
<td>Agar</td>
<td>15.0</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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 as the pH indicator system. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION
Dehydrated medium: 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.

Medium in bottles: 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: 10^4 to 10^6 CFU
Incubation conditions: aerobically at 35 ± 2°C for 18-24 hours.

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

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

PRESENTATION

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

TABLE OF SYMBOLS

<table>
<thead>
<tr>
<th>LOT Batch code</th>
<th>IVD In vitro Medical Diagnostic Device</th>
<th>Manufacturer</th>
<th>Use by</th>
<th>Fragile, handle with care</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>REF Catalogue number</td>
<td>Temperature limitation</td>
<td>Contains sufficient for &lt;N&gt; tests</td>
<td>Caution, consult Instruction For Use</td>
<td>Do not reuse</td>
</tr>
</tbody>
</table>

© Liofilchem® - Hektoen Enteric Agar - Rev.0 / 04.08.2015
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 \textit{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 \textit{Salmonella} e \textit{Shigella} spp.

FORMULA TIPICA (g/l)

<table>
<thead>
<tr>
<th>Composizione</th>
<th>Quantità</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Digerito Enzimatico di Carne</td>
<td>12.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Estratto di Lievito</td>
<td>3.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Lattosio</td>
<td>12.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Saccarosio</td>
<td>12.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Salicina</td>
<td>2.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Sali di Bile N. 3</td>
<td>9.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Sodio Cloruro</td>
<td>5.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Sodio Tiosolfato</td>
<td>5.0</td>
</tr>
<tr>
<td>Ammonio Citrato Ferrico</td>
<td>1.5</td>
</tr>
<tr>
<td>Fucsina acida</td>
<td>0.1</td>
</tr>
<tr>
<td>Blue di Bromotimolo</td>
<td>0.065</td>
</tr>
<tr>
<td>Agar</td>
<td>15.0</td>
</tr>
</tbody>
</table>

pH Finale 7.5 ± 0.2 a 25°C

PRINCIPIO DEL METODO

PREPARAZIONE
Terreno disidratato: 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.

Terreno in flaconi: 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
\textit{Shigella} e \textit{Providencia} spp, formano colonie verdi, umide. \textit{Salmonella} e \textit{Proteus} spp, crescono come colonie blu-verdi, con o senza centro nero dovuto alla produzione di \textit{H}_2\textit{S}.

I coliformi, i quali per la maggior parte fermentano rapidamente lattosio, saccarosio e salicina sviluppano colonie di colore rosso-salmone circondate da un aline 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 presunta 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 ± 2°C per 18-24 ore.

Tabella CQ.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Microrganismo</th>
<th>Crescita</th>
<th>Specifiche</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td><em>Salmonella Typhimurium</em></td>
<td>ATCC® 14028</td>
<td>Buona</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Shigella flexneri</em></td>
<td>ATCC® 12022</td>
<td>Buona</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Proteus mirabilis</em></td>
<td>ATCC® 12453</td>
<td>Buona</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Klebsiella pneumoniae</em></td>
<td>ATCC® 13883</td>
<td>Buona</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Escherichia coli</em></td>
<td>ATCC® 8739</td>
<td>Da parzialmente a completamente inibita</td>
</tr>
<tr>
<td><em>Enterococcus faecalis</em></td>
<td>ATCC® 29212</td>
<td>Inibita</td>
</tr>
</tbody>
</table>

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**
Il prodotto non contiene sostanza 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**

**PRESENTAZIONE**

<table>
<thead>
<tr>
<th>Contenuto</th>
<th>Ref.</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Hektoen Enteric Agar Piastré da 90 mm</td>
<td>20 piastré</td>
</tr>
<tr>
<td>Hektoen Enteric Agar Piastré da 90 mm</td>
<td>100 piastré</td>
</tr>
<tr>
<td>Hektoen Enteric Agar Flaconi Flaconi 6 x 100 ml</td>
<td>402230</td>
</tr>
<tr>
<td>Hektoen Enteric Agar Flaconi Flaconi 6 x 200 ml</td>
<td>412230</td>
</tr>
<tr>
<td>Hektoen Enteric Agar Flaconi 500 g di polvere</td>
<td>610021</td>
</tr>
<tr>
<td>Hektoen Enteric Agar Terreno disidratato 100 g di polvere</td>
<td>620021</td>
</tr>
<tr>
<td>Hektoen Enteric Agar Terreno disidratato 5 kg di polvere</td>
<td>6100215</td>
</tr>
</tbody>
</table>

**TABELLA DEI SIMBOLI**

<table>
<thead>
<tr>
<th>LOT</th>
<th>Codice del lotto</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>IVD</td>
<td>In vitro Diagnostic Medical Device</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Fabricante</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Utilizzare entro</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Fragile, maneggiare con cura</td>
</tr>
<tr>
<td>REF</td>
<td>Numero di catalogo</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Limiti di temperatura</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Contenuto sufficiente per &lt;n&gt; saggi</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Attenzione, Consultare le istruzioni per l’uso</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Non riutilizzare</td>
</tr>
</tbody>
</table>

© Liofilchem® - Hektoen Enteric Agar - Rev.0 / 04.08.2015