

AGAR HEKTOEN ENTERICO – RS 2012 RD-0002221

Medio de cultivo Agar Hektoen Entérico Para cultivo y aislamiento de microorganismos entéricos

INTRODUCCIÓN:

El medio de cultivo Agar Hektoen Enterico presentado en caja de Petri desechable preparado por BIOBACTER SAS es un medio moderadamente selectivo utilizado para el aislamiento y diferenciación de patógenos entéricos principalmente especies de *Shigella* este medio es recomendado para el análisis de aguas, alimentos y muestras clínicas.

COMPONENTES:

1. Caja 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 entérico es un medio moderadamente selectivo, y es particularmente utilizado para el aislamiento de especies de *Shigella*, frecuentemente es recomendado para el estudio de muestras de alimentos. La naturaleza selectiva del medio se debe a la incorporación de sales biliares en su fórmula. El medio además contiene tres carbohidratos sucrosa, lactosa y salicina para la óptima diferenciación de los patógenos entéricos. El citrato de amonio ferrico y el tiosulfato de sodio en el medio permiten la detección de cepas que producen Acido sulfhídrico por ennegrecimiento en el centro de las colonias. El agar Hektoen entérico se prepara a partir del medio de cultivo deshidratado y tiene la siguiente composición por litro:

Proteosa Peptona	12.0 g
Extracto de levadura.....	3.0 g
Sales biliares No. 3	9.0 g
Lactosa	12.0 g
Sacarosa	12.0 g
Salicina.....	2.0 g
Cloruro de Sodio	5.0 g
Tiosulfato de Sodio	5.0 g
Citrato de Amonio ferrico	1.5 g
Agar	14.0 g
Azul de Bromotimol	65.0 mg
Fuschina acida	0.1 g

CRITERIOS DE DESEMPEÑO Y LIMITACIONES DEL MÉTODO:

Las colonias de *Proteus* pueden asemejarse a las colonias de los géneros *Salmonella* y *Shigella* por lo que debe utilizar métodos de identificación que confirmen la identificación presuntiva de los organismos aislados en el medio,

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

El medio agar Hektoen entérico en placa de Petri viene listo para ser utilizado.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El medio Hektoen enterico debe conservarse a T° de 4-8°C colocando las cajas en posición invertida para evitar que el agua de condensación pueda caer sobre la superficie del medio. Este medio debe manipularse con cuidado evitando movimientos bruscos o caídas que puedan resquebrajar la capa del medio.

La congelación arruina totalmente el medio.

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

PROCEDIMIENTO

1. Con asa bacteriológica estéril trabajando siempre a la llama del mechero, tomar una mínima muestra.
2. Sembrar suavemente sobre la superficie tersa del medio por el procedimiento de agotamiento.
3. Incubar las placas en posición invertida a 37°C en aerobiosis ò atmósfera de 6% de CO₂.
4. Al término de 18-24 horas de incubación examinar el cultivo y determinar los estudios a seguir según las características de las colonias.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS ANALÍTICOS

La morfología y color de las colonias en agar Hektoen enterico son las siguientes:

Colonias verdes con centro negro: microorganismos no fermentadores de lactosa con producción de H₂S.

Colonias verdes: microorganismos no fermentadores de lactosa.

Colonias anaranjadas: microorganismos fermentadores de lactosa.

CONTROL DE CALIDAD:

El Agar Hektoen enterico tiene un estricto control de calidad durante el proceso de producción y al producto terminado que incluye el cumplimiento de las especificaciones del medio y las pruebas de crecimiento de cepas ATCC.

Salmonella Typhi 14028
Escherichia coli 25922
Proteus mirabilis 29906
Klebsiella pneumoniae 13883
Salmonella flenerii unal

Para las pruebas de inhibición de Gram-positivas se utiliza el *Enterococcus faecalis* 19433

VALOR DE REFERENCIA:

El Agar Hektoen enterico debe permitir el crecimiento de microorganismos gramnegativos principalmente del género *Salmonella* y *Shigella* e inhibir el crecimiento de cepas Gram-positivas

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS:

Se debe tener estrictas medidas de asepsia y antisepsia. Desechar todos los elementos utilizados en recipientes con solución de Hipoclorito de Sodio al 2.5%. Los cultivos una vez leídos deben esterilizarse en autoclave y luego empacarse en bolsa plástica roja para ser recogidos por la compañía recolectora de desechos biológicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Wentworth BB, Baselkivs, Doern GV et al.** Diagnostic procedures for bacterial infections 7th Ed. 1987. Washington, D.C Am Pub Health Ass.
2. **Pfaller MA.** Microbiology. Section IX, Chapter 44, Bacteriology pp 1111-1168 in Clinical laboratory Medicine Edited by McClatchey KD. 1994 Williams and Wilkins. Baltimore MD 21202 USA.
3. **Becton, Dickinson and Company.** Section III Culture Medium and Ingredients. Manual of Microbiological Culture Media. Pg 151-153 Maryland USA 2003.
4. **Nash P, Krenz MM.** Culture Media. Chapter 121. pg 1226-1228 in: Manual of Clinical Microbiology, edited by Balows A, Hauser WJ, Jr, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Fifth Ed. 1991 Am Soc Microbiol. Washington DC.
5. Quality control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard-Third Edition; Document M22-A3. CLSI 940 West Valley Road. Suite 1400, Wayne, Pennsylvania, 19087- 1898 USA, 2004.
6. Chaplin KC. Lauderdale –TL: Reagents stains and media: Bacteriology pg 353 chapter 21 in Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH et al. Manual of Clinical Microbiology Vol: 1 9th ed ASM PRESS Washington D.C 2007.

REVISIÓN SEGÚN NORMAS DEL INVIMA
Marzo 2015