



ÁGAR HEKTOEN

DETECÇÃO DE *SALMONELLA* E *SHIGELLA*

USO

O Ágar Hektöen é um meio seletivo para o isolamento e diferenciação de *Enterobacteriaceae* patogênicas. É utilizado em saúde animal no contexto da pesquisa de *Salmonella* (NF U47-102). Este meio também é recomendado para pesquisa de *Shigella* em microbiologia de alimentos (NF EN ISO 21567).

O Ágar Hektöen pode ser usado como um segundo meio nos métodos padrão para a detecção de *Salmonella*.

HISTÓRIA

O Ágar Hektöen foi formulado em 1967 por King e Metzger no Instituto Hektöen para aumentar a frequência de isolamento de *Shigella* e *Salmonella* em comparação com o obtido com outros meios de isolamento seletivo. Esse meio, que possibilitou o isolamento de uma ampla gama de enterobactérias patogênicas, que foi, por sua vez, menos inibido contra bactérias entéricas não patogênicas. A formulação atual difere da original na eliminação do desoxicolato e na redução da concentração de sais biliares. Ao mesmo tempo, a concentração de peptonas foi aumentada para neutralizar o efeito inibitório dos sais biliares.

PRINCÍPIOS

A inibição de microrganismos Gram-positiva deve-se à presença de sais biliares que também podem inibir ligeiramente o crescimento de algumas cepas de microrganismos Gram-negativos. O meio contém três carboidratos: lactose, sacarose e salicilina. A alta concentração de lactose promove a visualização de *Enterobacteriaceae* evitando o problema da fermentação tardia. Os demais carboidratos foram introduzidos de forma a garantir uma diferenciação mais eficiente e reduzir a toxicidade causada pelos indicadores coloridos, de forma a obter uma excelente recuperação da *Shigella*.

O princípio de leitura é baseado na possível fermentação dos 3 carboidratos presentes no meio. Os microrganismos que fermentam pelo menos um dos açúcares formam colônias cor salmão; os outros dão colônias azuis ou verdes. O sistema de indicadores coloridos, composto por azul de bromotimol e fucsina ácida, permite colorir enterobactérias lactose-positivas em salmão e microrganismos lactose-negativos em azul verde.

Na presença de tiosulfato de sódio, os microrganismos produtores de sulfeto de hidrogênio reduzem o citrato férrico amoniacal e se manifestam por enegrecimento devido ao aparecimento de sulfeto de ferro no centro das colônias.

COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio:

- Peptona de carne.....12,0 g
- Extrato de levedura..... 3,0 g
- Lactose 12,0 g
- Sacarose 12,0 g
- Salicilina 2,0 g



- Sais biliares	9,0 g
- Cloreto de Sódio.....	5,0 g
- Tiosulfato de sódio	5,0 g
- Citrato férrico amoniacal.....	1,5 g
- Azul de bromotimol.....	65 mg
- Fucsina ácida.....	0,1 g
- Ágar bacteriológico.....	13,5 g

pH do meio pronto a usar a 25°C: 7,4-7,7

PREPARAÇÃO

- Suspender 75,1 g de meio desidratado (BK067) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, leve o meio à fervura com agitação constante até a sua dissolução completa.
- **Não autoclavar.**
- Resfriar e manter a 44-47°C.
- Distribuir em placas de Petri estéreis e deixe solidificar em uma superfície fria.

-
Reconstituição:

75,1 g/L

- Esterilização:
Não autoclavar

INSTRUÇÃO DE USO

- Inocular a amostra nas placas assim preparadas, a partir do meio enriquecimentos usados para a detecção de *Salmonella* ou *Shigella*.
- Incubar a 37 ± 1°C por 21 a 24 horas.

- Semeando:

Em superfície

- Incubação:
24 h a 37°C

LEITURA

Salmonella apresenta colônias verdes ou azuladas, com um centro preto para a maioria das cepas.

Shigella possui colônias úmidas verdes ou azuladas sem centro preto.

Os Coliformes exibem colônias amarelo-salmão.

Característica	Microrganismos
Colônias salmão a amarelo	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Arizona</i> , <i>Serratia</i>
Colônias salmão a amarelo com centros pretos	<i>Proteus vulgaris</i>
Colônias verdes com centro preto	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella</i>
Colônias verdes a azuladas	<i>Shigella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Proteus morganii</i> , <i>Proteus rettgeri</i>
Colônias pequenas azuis ou acastanhadas	<i>Pseudomonas</i> (oxidase positive)



Consulte o ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó bege e homogêneo.

Meio preparado: ágar verde escuro.

Resultado da cultura após 24 horas de incubação a 37°C

Microrganismo		Crescimento	Característica das colônias
<i>Salmonella Typhimurium</i>	WDCM 00031	Bom	Verde com centro preto
<i>Salmonella Enteritidis</i>	WDCM 00030	Bom	Verde com centro preto
<i>Shigella sonnei</i>	WDCM 00127	Bom	Verde
<i>Shigella flexneri</i>	WDCM 00125	Bom	Verde
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Parcialmente inibido	Laranja-salmão
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inibido	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inibido	-

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio desidratado: 2-30°C.

A data de validade é mencionada no rótulo.

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Frasco de 500 g BK067HA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

King, S., and Metzger, W.I. 1968. A New Plating Medium for the Isolation of Enteric Pathogens: I. Hektoen Enteric Agar. Applied and Environmental Microbiology, **16**:577-578.

King, S., and Metzger, W.I. 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.

Taylor, W.I., and Schelhart, D. 1971. Isolation of *Shigella*. VIII. Comparison of Xylose Lysine Deoxycholate Agar, Hektoen Enteric Agar, Salmonella-Shigella Agar and Eosin Methylene Blue Agar with stool specimens. *Applied Microbiology*, **21**:32-37.

Bisciello, N.B., and Schrade, T.P. 1974. Evaluation of Hektoen enteric Agar for the detection of *Salmonella* in foods and feeds. *Journal of A.O.A.C.*, **57**:992-996.

NF EN ISO 21567. Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

NF U47-102. Janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1: recherche des *Salmonella* spp.

OUTRAS INFORMAÇÕES

As informações nas etiquetas prevalecem sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitas a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: HEKTOEN_FR_V11

Data de criação: 03-2003

Data de revisão: 02-2018

Motivo da revisão: Referências bibliográficas.

ANEXO 1: SUPORTE FOTOGRÁFICO

Ágar Hektöen

Deteção de enterobactérias patogênicas

Leitura:

Crescimento obtido após 24 horas de incubação a 37°C.

Salmonella Typhimurium

Colônia característica: cor verde com um centro preto, que se torna completamente preto no final da incubação.

