

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

ΠΡΟΪΟΝ: **S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR – XLD AGAR**

ΚΩΔΙΚΟΣ: **030157**



Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2009

Ημ. 4^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Τριχοτομημένο τρυβλίο S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR Για την καλλιέργεια εκλεκτική απομόνωση και ταυτοποίηση των *Salmonella*, *Shigella* & *Enterobacteria*.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Στο S.S. AGAR το Beef Extract και το Balanced Peptone No. 1 παρέχουν άζωτο, βιταμίνες, μέταλλα και αμινοξέα απαραίτητα για την ανάπτυξη. Η λακτόζη είναι ο ζυμώσιμος υδατάνθρακας που παρέχει άνθρακα και ενέργεια. Μείγμα Bile Salts No. 3, Sodium citrate και Brilliant Green αναστέλλουν τα Θετικά (+) κατά Gram βακτήρια, τα περισσότερα κολοβακτηρίδια και μερικούς *Proteus spp.* Επιτρέποντας παράλληλα την ανάπτυξη της *Salmonella spp.* Το Neutral Red είναι ο δείκτης του pH. Το Sodium thiosulphate και το Ferric citrate επιτρέπουν την ανίχνευση του H₂S που παράγουν βακτήρια, όπως ο *Proteus* και ορισμένα στελέχη της *Salmonella*, καθώς παράγουν αποικίες με μαύρα κέντρα και καθαρό φωτοστέφανο. Τα βακτήρια που δεν ζυμώνουν τη λακτόζη (υποτιθέμενα παθογόνα) παράγουν διαυγείς αποικίες, διαφανείς ή άχρωμες, ενώ τα κολοβακτηρίδια παρεμποδίζονται επαρκώς και σχηματίζουν μικρές αποικίες που ποικίλλουν από ροζ σε κόκκινο χρώμα. Η σύνθεση αυτή είναι ιδιαίτερα εκλεκτική, και δεν συνιστάται για την πρωταρχική απομόνωση της *Shigella*. Ορισμένοι στελέχοι *Shigella spp.* Μπορεί να μην αναπτυχθούν.

ΣΥΝΘΕΣΗ S.S. AGAR	g/litre
Beef Extract	5.0
Balanced Peptone No. 1	5.0
Lactose	10.0
Bile Salts No. 3	8.5
Sodium citrate	8.5
Sodium thiosulphate	8.5
Ferric citrate	1.0
Brilliant Green	0.00033
Neutral Red	0.025
Agar No. 2	13.5

Εμφάνιση: Κόκκινο - Ροζ διαυγές,

Τελικό pH 7.4 ± 0.2. στους 25 °C

Το HEKTOEN ENTERIC AGAR είναι ένα εκλεκτικό υλικό που χρησιμοποιείται για την απομόνωση και διαφοροποίηση των εντεροπαθογόνων όπως η *Salmonella* και η *Shigella*, οι οποίες προκαλούν ποικίλες σοβαρές γαστρεντερικές παθήσεις στον άνθρωπο. Για την ανάπτυξη παρέχονται η Peptone Meat και το Yeast Extract. Η αυξημένη περιεκτικότητα της πεπτόνης και των τριών σακχάρων (Lactose, Sucrose, Salicin) ως πηγές άνθρακα και ενέργειας, μειώνουν την ανασταλτική δράση των χολικών αλάτων No. 3 σε *Salmonella* και *Shigella spp.* Η συγκέντρωση λακτόζης στο HEKTOEN ENTERIC AGAR είναι υψηλότερη από ό, τι σε άλλα υλικά που έχουν την ίδια χρήση. Αυτό βοηθά στην απεικόνιση των εντεροπαθογόνων βακτηριδίων και ελαχιστοποιεί το πρόβλημα της καθυστέρησης ζύμωσης λακτόζης. Το Bromothymol blue και η Acid fuchsin είναι δείκτες pH. Το Sodium thiosulphate παρέχει θείο, και Το Ammonium ferric citrate είναι ο δείκτης για την παραγωγή H₂S. Οι θετικές ως προς το H₂S αποικίες είναι μαύρες. Το χλωριούχο νάτριο παρέχει απαραίτητους ηλεκτρολύτες διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία. Το Βακτηριολογικό Agar είναι ο στερεοποιητικός παράγοντας.

ΣΥΝΘΕΣΗ HEKTOEN ENTERIC AGAR	g/litre
Meat Peptone	12.0
Yeast Extract	3.0
Lactose	12.0
Sucrose	12.0
Salicin	2.0
Bile Salts No. 3	9.0
Sodium desoxycholate	2.4
Sodium chloride	5.0
Sodium thiosulphate	5.0
Ammonium ferric citrate	1.5
Acid fuchsin	0.1
Bromothymol blue	0.064
Bacteriological Agar	14.0

Εμφάνιση: Πράσινο ανοιχτό διαυγές.

Τελικό pH 7.5 ± 0.2 °C στους 25 °C.

Το XLD AGAR Δεν έχει πολλές θρεπτικές ουσίες και στηρίζεται στο Sodium desoxycholate για την εκλεκτικότητα (αναστολή gram + κόκκων). Η ξυλόζη ζυμώνεται αργά από την *Shigella* και την *Providencia* και έτσι εμφανίζεται αλκαλική αντίδραση (κόκκινες αποικίες). Η Σαλμονέλλα ζυμώνει την ξυλόζη γρήγορα αλλά και την λυσίνη δίνοντας αλκαλική αντίδραση. Τα μεγάλα επίπεδα λακτόζης και σουκρόζης αποτρέπουν τους λυσίνη θετικούς οργανισμούς από την αλκαλική αντίδραση. Η παραγωγή υδρόθειου από τη Σαλμονέλλα και την Αριζόνα υποδηλώνεται με την εμφάνιση κόκκινων αποικιών με μαύρο κέντρο. Το Sodium thiosulfate προστίθεται σαν πηγή θείου και το ferric ammonium citrate σαν δείκτης δείκτης για την παραγωγή H₂S. Το ερυθρό της φαινόλης χρησιμοποιείται σαν δείκτης οξέος – βάσης με την ζύμωση της λακτόζης και της σουκρόζης δίνοντας κίτρινες αποικίες. Το εκχύλισμα ζύμης είναι μια πηγή βιταμινών, ιδιαίτερα του συμπλέγματος -B απαραίτητη για την βακτηριακή ανάπτυξη. Το χλωριούχο νάτριο παρέχει απαραίτητους ηλεκτρολύτες και διατηρεί την ωσμωτική ισορροπία. Το Βακτηριολογικό Agar είναι ο στερεοποιητικός παράγοντας.

ΣΥΝΘΕΣΗ XLD AGAR	g/litre
Xylose	3.75
L-Lysine	5.0
Lactose	7.5
Sucrose	7.5
Sodium chloride	5.0
Yeast Extract	3.0
Phenol red	0.08
Bacteriological Agar	13.5
Sodium desoxycholate	1.0
Sodium thiosulphate	6.8
Ferric ammonium citrate	0.8

Εμφάνιση: Ροζ - κόκκινο διαυγές.

Τελικό pH 7.4 ± 0.2. στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου. Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες. Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε. Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης. Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης. Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι. Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους **2 – 12 °C** μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους. Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των **2 °C** δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους **6 - 25 °C** για **4 ημέρες** ή στους **25 - 40 °C** για **48 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Τοποθετήστε τα τρυβλία στον επωαστικό κλίβανο (35 - 37 °C) για 30 – 45'.

Εμβολιάστε το δείγμα το συντομότερο δυνατό μετά τη λήψη του και επιστρώστε με διαδοχικές αραιώσεις για μεμονωμένες αποικίες.

Επωάστε σε αερόβιες συνθήκες, στους 35 - 37 °C για 24 ώρες. Συμβουλευτείτε τον πίνακα για το χρώμα των αποικιών.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

S.S. AGAR:

Τα *Εντεροβακτηριακά* διαφοροποιούνται από την ικανότητα τους να ζυμώνουν την λακτόζη. Τα είδη της *Σαλμονέλλας* και της *Σιγγέλλας* που δεν ζυμώνουν την λακτόζη και παράγουν άχρωμες αποικίες. Τα είδη της *Σαλμονέλλας* που παράγουν H₂S εμφανίζουν αποικίες με μαύρο κέντρο. Η *E. coli* παράγει ροζ έως κόκκινες αποικίες. Ο *Πρωτέας* μπορεί να αναπτυχθεί στο S.S.Agar δίνοντας αποικίες με γκρι έως μαύρο κέντρο λόγω της παραγωγής υδρόθειου. Ο *Enterococcus faecalis* αναστέλλεται μερικώς ενώ οι αποικίες του είναι άχρωμες.

HEKTOEN ENTERIC AGAR:

Στο HEKTOEN ENTERIC AGAR η *Salmonella spp* παράγει αποικίες μπλε - πράσινες με μαύρο κέντρο λόγω της παραγωγής H₂S. Η *Shigella flexneri* παράγει μπλε αποικίες.

Η *E. coli* παράγει μεγάλες αποικίες κίτρινες – πορτοκαλί.

XLD AGAR:

Η *Salmonella spp.* εμφανίζει αποικίες κόκκινες με ή χωρίς μαύρο κέντρο. Οι θετικοί στη λυσίνη οργανισμοί εμφανίζονται κόκκινοι. Η *Shigella spp.* εμφανίζει επίσης κόκκινες αποικίες. Άλλα βακτηρίδια αρνητικά στη λυσίνη τα οποία ζυμώνουν τη λακτόζη, όπως *E. Coli*, *Citrobacter* και *Proteus spp.* εμφανίζονται κίτρινες.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης Microgen Salmonella Latex κωδικός: F42) και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες μοβ αποικίες Σαλμονέλα. Ο Πρωτέας είναι ένα βακτηρίδιο που μπορεί να δώσει μαύρες αποικίες όπως της Σαλμονέλλας αυτό συμβαίνει γιατί έχει την ιδιότητα να παράγει H₂S από τη διάσπαση του ferric ammonium citrate.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

S.S. AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Μορφή και χρώμα αποικιών
<i>Escherichia coli</i>	25922	Μερική αναστολή Κόκκινες αποικίες.
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Μερική αναστολή
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Άχρωμες με μαύρο κέντρο.
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Άχρωμες αποικίες.



S.S. AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

HEKTOEN ENTERIC AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Μορφή και χρώμα αποικιών
<i>Escherichia coli</i>	25922	Καλή	Μεγάλες, χρώμα κίτρινο - σομόν
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Αναστέλλεται	
<i>Enterobacter cloacae</i>	23355	Καλή	Μεγάλες, χρώμα κίτρινο - σομόν
<i>Proteus vulgaris</i>	13315	Αναστέλλεται	Πρασινωπές
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Καλή	Πράσινες
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Καλή	Μπλε - πράσινες με μαύρο κέντρο.



HEKTOEN ENTERIC AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

XLD AGAR

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη	Αποικίες
<i>Escherichia coli</i>	25922	Μερική αναστολή	Κίτρινες αποικίες
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Αναστέλλεται	
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Καλή	Κόκκινες αποικίες με μαύρο κέντρο
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Καλή	Κόκκινες αποικίες



XLD AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα. Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα. Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR **CE**

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο τριχοτομημένο 9cm	030157	10 τεμάχια	2 – 12 °C	3 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010401WF. EDMA (14 01 04 01) non-chromogenic media (Plates).

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

S.S. AGAR

Isenberg, H.D., Kominos, S., and Siegel, M. (1969). Isolation of salmonellae and shigellae from an artificial mixture of fecal bacteria. Appl. Microbiol., 18: 4, 656-659.

Leifson, E. (1935). New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J. Pathol. Bacteriol., 40: 581-589.

Taylor, W.I., Harris, B. (1965) Isolation of shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44: 4, 476-479.

HEKTOEN ENTERIC AGAR

King, S. and Metzger, W.I. (1967). A new medium for the isolation of *Salmonella* and *Shigella* species. Bact. Proc. Am. Soc. Microbiol. 77.

King, S. and Metzger, W.I. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. Hektoen Enteric Agar, Appl. Microbiol., 16(4), 577.

King, S. and Metzger, W.I. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparison of Hektoen Agar with SS and EMB agar. Appl. Microbiol., 16(4), 579.

Speck, M.L. (ed.). (1976). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. Washington, D.C.: American Public Health Association.

International Standard UNE-EN-ISO 6579. Food Microbiology for human consumption and Animal Feed. Horizontal Method for the detection of *Salmonella* spp. ISO 19250 water quality-detection of *Salmonella* spp.

XLD AGAR

Taylor, W.I. (1965). Isolation of shigellae. I. Xylose Lysine Agars: New media for the isolation of enteric pathogens. Am. J. Clin. Pathol., 44: 471-475.

Taylor, W.I., and Harris, B. (1965). Isolation of shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol., 44(4), 476-479.

Taylor, W.I., and Harris, B. (1967). Isolation of shigellae. III. Comparison of new and traditional media with stool specimens. Am. J. Clin. Pathol., 48: 350 - 355.

Taylor, W.I., and Schelhart, D. (1967). Isolation of shigellae. IV. Comparison of plating media with stools. Am. J. Clin. Pathol., 48: 356-362.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprepare.gr

**TECHNICAL DATA SHEET**

PRODUCT: **S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR – XLD AGAR**

REFERENCE: **030157**



Date 1st Edition:

7th 2009

Date 4th Revision:

6th 2024

DESCRIPTION

S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD Agar for the cultivation, selective isolation and identification of *Salmonella*, *Shigella* & *Enterobacteria*.

PRINCIPLE OF THE METHOD

In S.S. AGAR, Beef Extract and Balanced Peptone No. 1 provide nitrogen, vitamins, minerals, and amino acids essential for bacterial growth. Lactose is the fermentable carbohydrate that supplies carbon and energy. A mixture of Bile Salts No. 3, Sodium Citrate, and Brilliant Green inhibits Gram-positive (+) bacteria, most coliforms, and some *Proteus* spp., while allowing the growth of *Salmonella* spp. Neutral Red acts as a pH indicator. Sodium Thiosulfate and Ferric Citrate enable the detection of H₂S-producing bacteria, such as *Proteus* and certain strains of *Salmonella*, forming colonies with black centers and a clear halo. Bacteria that do not ferment lactose (presumed pathogens) produce clear, transparent, or colorless colonies, while coliforms are sufficiently inhibited and form small colonies ranging from pink to red. This formulation is highly selective and is not recommended for the primary isolation of *Shigella*. Certain strains of *Shigella* spp. may not grow.

COMPOSITION S.S. AGAR	g/litre
Beef Extract	5.0
Balanced Peptone No. 1	5.0
Lactose	10.0
Bile Salts No. 3	8.5
Sodium citrate	8.5
Sodium thiosulphate	8.5
Ferric citrate	1.0
Brilliant Green	0.00033
Neutral Red	0.025
Agar No. 2	13.5

Appearance: Red - Pink Clear,

Final pH 7.4 ± 0.2. at 25 ° C

HEKTOEN ENTERIC AGAR is a selective medium used for the isolation and differentiation of enteropathogens such as *Salmonella* and *Shigella*, which cause various severe gastrointestinal diseases in humans. Peptone Meat and Yeast Extract provide essential nutrients for bacterial growth. The increased concentration of peptone and the three sugars (Lactose, Sucrose, Salicin) as sources of carbon and energy reduces the inhibitory effect of Bile Salts No. 3 on *Salmonella* and *Shigella* spp. The lactose concentration in HEKTOEN ENTERIC AGAR is higher than in other media used for the same purpose. This enhances the visualization of enteropathogenic bacteria and minimizes the issue of delayed lactose fermentation. Bromothymol Blue and Acid Fuchsin act as pH indicators. Sodium Thiosulfate provides sulfur, while Ammonium Ferric Citrate serves as an indicator for H₂S production. Colonies positive for H₂S appear black. Sodium Chloride supplies essential electrolytes and maintains osmotic balance. Bacteriological Agar is the solidifying agent.

COMPOSITION HEKTOEN ENTERIC AGAR	g/litre
Meat Peptone	12.0
Yeast Extract	3.0
Lactose	12.0
Sucrose	12.0
Salicin	2.0
Bile Salts No. 3	9.0
Sodium desoxycholate	2.4
Sodium chloride	5.0
Sodium thiosulphate	5.0
Ammonium ferric citrate	1.5
Acid fuchsin	0.1
Bromothymol blue	0.064
Bacteriological Agar	14.0

Appearance: Green light clear.

Final pH 7.5 ± 0.2 ° C at 25 ° C.

XLD AGAR is a medium with limited nutrients and relies on Sodium Desoxycholate for its selectivity (inhibiting Gram-positive cocci). Xylose is slowly fermented by *Shigella* and *Providencia*, resulting in an alkaline reaction (red colonies). *Salmonella* ferments xylose rapidly, along with lysine, producing an alkaline reaction. The high levels of lactose and sucrose prevent lysine-positive organisms from exhibiting alkaline reactions. The production of hydrogen sulfide by *Salmonella* and *Arizona* is indicated by the appearance of red colonies with a black center.

Sodium thiosulfate is added as a source of sulfur, and ferric ammonium citrate acts as an indicator for H₂S production. Phenol red is used as an acid-based indicator, with lactose and sucrose fermentation producing yellow colonies. Yeast extract provides vitamins, especially B-complex, essential for bacterial growth. Sodium chloride supplies necessary electrolytes and maintains osmotic balance. Bacteriological agar is the solidifying agent.

COMPOSITION	g/litre
Xylose	3.75
L-Lysine	5.0
Lactose	7.5
Sucrose	7.5
Sodium chloride	5.0
Yeast Extract	3.0
Phenol red	0.08
Bacteriological Agar	13.5
Sodium desoxycholate	1.0
Sodium thiosulphate	6.8
Ferric ammonium citrate	0.8

Appearance: Pink - red clear.

Final pH 7.4 ± 0.2. at 25 ° C.

PRECAUTIONS

To S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR is an in-vitro laboratory diagnostic material and should only be handled by qualified people in the laboratory. This material contains peptones and extracts of animal origin. The certificates regarding the origin and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. For this reason, it is recommended that these materials be treated as potentially infectious, with the usual safety precautions (avoiding ingestion or inhalation). Plates should always be handled with gloves and in Laminar flow Class II, to avoid contamination mainly by saprophytic fungi. If the plate is cracked or the bag has a hole, do not use it. Do not use petri dishes if there are signs of microbial contamination. The thickness of the agar must be 4 - 5 mm and the material without cracks, dryness or other signs of deterioration. After the expiry date the material is unfit for use. In case of contact with the skin, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be destroyed according to the hygienic rules prescribed for the management of contaminated samples.

STORAGE CONDITIONS

The plates should be stored at **2 – 12 °C** within their packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** can cause excessive moisture inside the material, leading to the risk of contamination. Freezing, even briefly, destroys the material. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used until the expiration date indicated on the label. For transportation, stability studies have shown that the plates can remain at **6 - 25 °C** for **4 days** or at **25 - 40 °C** for **48 hours** without affecting the product's performance.

METHOD OF USE

Place the plates in the incubator (35 - 37 °C) for 30 – 45 minutes.

Inoculate the sample as soon as possible after collection, streaking with serial dilutions to isolate individual colonies.

Incubate aerobically at 35 - 37 °C for 24 hours. Refer to the table for colony color interpretation.

READING AND INTERPRETATION

S.S. AGAR:

Enterobacteria are differentiated by their ability to ferment lactose.

Salmonella and *Shigella* species, which do not ferment lactose, produce colorless colonies.

Salmonella species that produce H₂S show colonies with a black center.

E. coli produces pink to red colonies.

Proteus may grow on S.S. Agar, producing colonies with gray to black centers due to H₂S production.

Enterococcus faecalis is partially inhibited, and its colonies are colorless.

HEKTOEN ENTERIC AGAR:

On HEKTOEN ENTERIC AGAR, *Salmonella* spp. produces blue-green colonies with a black center due to H₂S production.

Shigella flexneri produces blue colonies.

E. coli produces large yellow-orange colonies.

XLD AGAR:

Salmonella spp. produces red colonies with or without a black center.

Lysine-positive organisms produce red colonies.

Shigella spp. also produces red colonies.

Other lysine-negative bacteria, such as *E. coli*, *Citrobacter*, and *Proteus* spp., that ferment lactose, appear yellow.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Final identification must be done using biochemical and serological tests (e.g., Microgen *Salmonella* Latex agglutination test, code: F42), which can be performed directly from suspected purple *Salmonella* colonies. *Proteus* is a bacterium that can produce black colonies like those of *Salmonella*, as it can produce H₂S from the breakdown of ferric ammonium citrate.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

S.S. AGAR

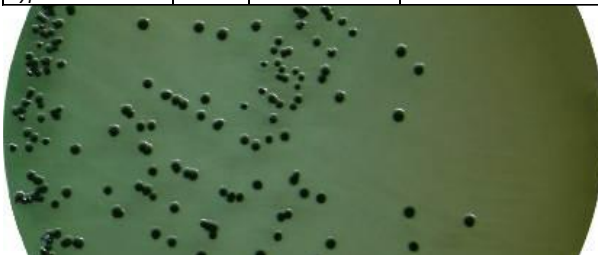
Μικρόβιο	ATCC	Μορφή και χρώμα αποικιών
<i>Escherichia coli</i>	25922	Μερική αναστολή Κόκκινες αποικίες.
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Μερική αναστολή
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Άχρωμες με μαύρο κέντρο.
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Άχρωμες αποικίες.



S.S. AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

HEKTOEN ENTERIC AGAR

Germ	ATCC	Growth	Form and color of colonies
<i>Escherichia coli</i>	25922	Good	Large, yellow - salmon color
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Is suspended	
<i>Enterobacter cloacae</i>	23355	Good	Large, yellow - salmon color
<i>Proteus vulgaris</i>	13315	Is suspended	Greenish
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Good	Green
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Good	Blue - green with black in the center



HEKTOEN ENTERIC AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

XLD AGAR

Germ	ATCC	Growth	Colonies
<i>Escherichia coli</i>	25922	Partial suspension	Yellow colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Is suspended	
<i>Salmonella typhimurium</i>	14028	Good	Red colonies with black in the center
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Good	Red colonies



XLD AGAR: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

WASTE DISPOSAL OF WASTE

Materials that show no growth can be considered as non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials that show colony growth must be disposed of according to the guidelines for infectious or potentially infectious waste. The laboratory is responsible for the proper management of infectious waste according to its nature and level of risk and must handle and dispose of it (or assign its management and disposal) in compliance with the applicable regulations.

SPECIFICATIONS

S.S. AGAR – HEKTOEN ENTERIC AGAR - XLD AGAR 

ITEM	CODE	PACKAGE	KEEPING	LIFE SPAN
Three-way split 9cm	030157	10 pieces	2 – 12 °C	3 months

It is produced in Greece from the Bioprepate Company in accordance with the requirements of the European guidance 98/79/EK. Code by EDMA 14 01 04 01. The Bioprepate Company has been certified according to the standards EN ISO 9001:2015 / EAOT EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004.

BIBLIOGRAPHY

Isenberg, H.D., Kominos, S., and Siegel, M. (1969). Isolation of salmonellae and shigellae from an artificial mixture of fecal bacteria. Appl. Microbiol., 18: 4, 656-659.

Leifson, E. (1935). New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. J. Pathol. Bacteriol., 40: 581-589.

Taylor, W.I., Harris, B. (1965) Isolation of shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Pathol. 44: 4, 476-479.

King, S. and Metzger, W.I. (1967). A new medium for the isolation of *Salmonella* and *Shigella* species. Bact. Proc. Am. Soc. Microbiol. 77.

King, S. and Metzger, W.I. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. Hektoen Enteric Agar, Appl. Microbiol., 16(4), 577.

King, S. and Metzger, W.I. (1968). A new plating medium for the isolation of enteric pathogens. II. Comparison of Hektoen Agar with SS and EMB agar. Appl. Microbiol., 16(4), 579.

Speck, M.L. (ed.). (1976). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. Washington, D.C.: American Public Health Association.

International Standard UNE-EN-ISO 6579. Food Microbiology for human consumption and Animal Feed. Horizontal Method for the detection of *Salmonella* spp.

ISO 19250 water quality-detection of *Salmonella* spp.

IN VITRO MANUFACTURER'S DATA



G. PAPANIKOLAOU & CO

PRODUCTION LABORATORIES OF CULTURE MEDIA

Potamou 5, Industrial Area Keratea, Attica

P.O. Box: 4893, Postal Code: 9001 - Tel: +30 2299066113. Fax: +30 2299066112

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprepate.gr