



## ISTRUZIONI PER L'USO

# BIOSECTOR CHROMOGENIC SALMONELLA AGAR HEKTOEN ENTERIC AGAR

Piastre a due settori pronte all'uso

**1 - DESTINAZIONE D'USO**

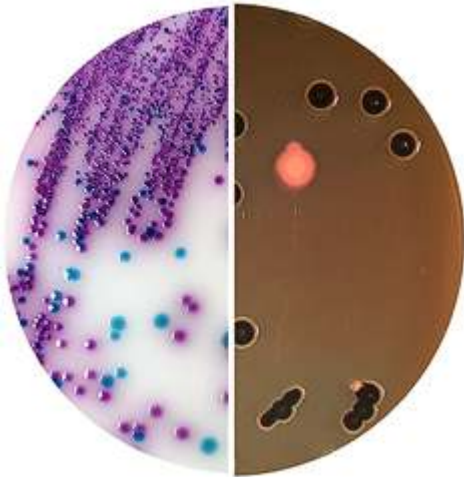
Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreni di coltura selettivi e differenziali per l'isolamento dei patogeni enterici Gram-negativi, soprattutto *Salmonella* e *Shigella*, da campioni clinici e da altri materiali.

**2 - COMPOSIZIONI - FORMULE TIPICHE****CHROMOGENIC SALMONELLA AGAR \***

Peptone	10,0 g
Miscela di inibitori	2,0 g
Miscela di cromogeni	0,9 g
Agar	15,0 g
Opacizzante	10,0 g
Emulsionanti	11,4 mL
Cefsulodina	5,0 mg
Acqua purificata	1000 mL

**HEKTOEN ENTERIC AGAR\***

Triptosio	12,000 g
Estratto di lievito	3,000 g
Sali biliari n° 3	9,000 g
Lattosio	12,000 g
Saccarosio	12,000 g
Salicina	2,000 g
Sodio cloruro	5,000 g
Sodio tiosolfato	5,000 g
Ferro ammonio citrato	1,500 g
Agar	15,000 g
Blu di bromotimolo	0,065 g
Fucsina acida	0,100 g
Acqua purificata	1000 mL



Salmonella sp. su Chromogenic Salmonella Agar (colonie rosso-magenta) e su Hektoen Enteric Agar (colonie nere)

\*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

La piastra a 2 settori con i terreni di coltura Chromogenic Salmonella Agar ed Hektoen Enteric Agar è indicata in microbiologia clinica ed industriale quando sia richiesta la determinazione nei campioni di *Salmonella* spp. (inclusa *S. Typhi* ed i ceppi di *Salmonella lac+*) e di *Shigella* spp.

**Chromogenic Salmonella Agar** è un terreno selettivo e diagnostico utile per l'isolamento di *Salmonella* spp. da campioni clinici e non clinici e per l'identificazione presuntiva delle colonie. Il terreno è citato dal rapporto ISTISAN 05/27 tra i vari terreni in piastra per l'isolamento di *Salmonella* spp.<sup>1</sup> ed i terreni cromogeni sono inclusi nelle norme ISO per determinare *Salmonella* nelle acque e negli alimenti<sup>2,3</sup>.

I peptoni forniscono carbonio, azoto, vitamine e oligoelementi per la crescita batterica. I composti selettivi incorporati nel mezzo sono: cefsulodina, una cefalosporina di terza generazione che ha un'attività inibitoria molto specifica verso *P. aeruginosa* e *S. aureus*, desossicolato di sodio, che sopprime la crescita dei batteri Gram-positivi e di alcuni batteri Gram-negativi, Tergitol 4, attivo principalmente contro la crescita di *Proteus* spp.

La differenziazione di *Salmonella* dagli altri organismi che possono crescere sul terreno è ottenuta con:

- la presenza di un substrato cromogeno (magenta caprilato) sul quale agisce una esterasi specifica di *Salmonella* con liberazione di un metabolita color rosso magenta.
- la presenza di un derivato cromogeno glucopiranosidico sul quale agisce la  $\beta$ -glucosidasi con liberazione di un metabolita color verde-blu.

Alcune *Enterobacteriaceae*, tra cui *Klebsiella* ed *Enterobacter*, ma non *Salmonella*, sono  $\beta$ -glucosidasi positive e, se crescono, formeranno colonie blu-verdi o blu scuro, anche nel caso fossero esterasi positive, che le rendono facilmente differenziabili da *Salmonella* che coltiva con colonie rosso-magenta. Il sistema selettivo/differenziale del terreno consente di determinare anche i rari ceppi di *Salmonella* fermentanti il lattosio che sui terreni tradizionali e su altri terreni cromogeni non sono evidenziabili. Il terreno consente l'isolamento e l'identificazione presuntiva anche di *S. Typhi*. Il fondo opaco biancastro del terreno pronto in piastra permette una migliore differenziazione dei colori delle colonie.

**Hektoen Enteric Agar** è un terreno selettivo e differenziale destinato all'isolamento dei patogeni enterici Gram-negativi, in particolare *Salmonella* e *Shigella*, da campioni clinici.<sup>4</sup> Hektoen Enteric Agar è raccomandato dalla norma ISO 21567<sup>5</sup> per l'isolamento di *Shigella* e da FDA-BAM<sup>6</sup> per la determinazione di *Salmonella*, negli alimenti.

Il peptone animale e l'estratto di lievito forniscono carbonio, azoto, vitamine ed oligoelementi per la crescita batterica; l'alta concentrazione di sali biliari n°3 ed i coloranti inibiscono i batteri Gram-positivi e la maggior parte dei coliformi del tratto intestinale. Poiché i patogeni enterici *Salmonella* e *Shigella* sono tolleranti a queste sostanze inibenti, generalmente crescono più velocemente ed in numero superiore rispetto ai coliformi.<sup>7</sup> Il lattosio, il saccarosio e la salicina sono fermentati dai coliformi, o almeno dai ceppi che sono in grado di crescere in presenza dei sali biliari e da alcune specie di *Proteus*, con produzione di acidi. Le condizioni acide nel terreno fanno virare l'indicatore blu di bromotimolo dal suo colore verde a pH neutro a un colore giallo-arancio ed inoltre inducono la precipitazione dei sali biliari con la





formazione di una zona opaca attorno alle colonie. Il ferro ammonio citrato è un indicatore della formazione di idrogeno solforato. *Salmonella* spp. produce tiosolfato reductasi che causa il rilascio di una molecola di solfuro dal sodio tiosolfato presente nel terreno. Questa molecola di solfuro si accoppia con uno ione idrogeno per formare H<sub>2</sub>S gassoso che, reagendo con il ferro ammonio citrato, forma un precipitato che dà luogo a colonie nere o con un centro nero.

**4 – CARATTERISTICHE FISICHE****CHROMOGENIC SALMONELLA AGAR**

Aspetto del terreno in piastra biancastro, opaco  
pH finale a 20-25°C 7,2 ± 0,2

**HEKTOEN ENTERIC AGAR**

Aspetto del terreno in piastra limpido o leggermente opalescente di colore verde intenso  
pH finale a 20-25°C 7,6 ± 0,2

**5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Biosector Chromogenic Salmonella Agar / Hektoen Enteric Agar CND: W0104010407, EDMA: 14.01.04.05; RDM: 1458967/R	Piastre a due settori pronte all'uso	495350	2 x 10 piastre ø 90 mm a due settori; confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane; confezionamento secondario: scatola di cartone

**6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI**

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

**7 – CAMPIONI**

Le piastre a 2 settori con Chromogenic Salmonella Agar ed Hektoen Enteric Agar sono destinate all'esame batteriologico di campioni clinici come feci e tampone rettale e campioni non clinici. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto, la conservazione dei campioni clinici.<sup>8</sup> Consultare le norme applicabili per i dettagli sulla raccolta e la preparazione dei campioni alimentari e delle acque.<sup>2,3,5</sup>

**8 - PROCEDURA DELL'ANALISI**

**RICONOSCIMENTO DEI TERRENI:** Chromogenic Salmonella Agar: terreno biancastro opaco; Hektoen Enteric Agar: terreno color verde intenso. Il massimo recupero di *Salmonella* dai campioni fecali si ottiene utilizzando un arricchimento in Selenite Broth seguito dalla semina su terreni selettivi. Per l'isolamento di *Shigella* da campioni fecali, si consiglia l'arricchimento in GN Broth,<sup>9</sup>

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie dei due terreni.

Inoculare con il materiale strisciando con l'ansa sui due terreni, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate. In alternativa se il campione è seminato direttamente dal tampone di raccolta, rotolarlo su una area ristretta in prossimità dei due bordi piastra, quindi strisciare su tutta la superficie dei due terreni con un'ansa.

Incubare a 35-37 °C in aerobiosi ed osservare dopo 18-24 ore.

**9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie isolate.

I diversi microrganismi coltivano su Chromogenic Salmonella Agar con le seguenti caratteristiche:

Microrganismo	Caratteristiche colturali
<i>Salmonella</i> spp.	buona crescita colonie color magenta
<i>Salmonella</i> spp. lac +	buona crescita colonie color magenta
<i>Salmonella</i> Typhi	buona crescita colonie color magenta
<i>E.coli</i>	crescita scarsa con colonie incolori
<i>Enterobacter</i> spp.	crescita scarsa con colonie verde-blu
<i>Klebsiella</i> spp.	crescita scarsa con colonie verde-blu
<i>Pseudomonas</i> spp	crescita generalmente inibita
<i>Proteus</i> spp.	crescita scarsa con colonie marrone chiaro
Batteri Gram positivi	crescita inibita

Le diverse caratteristiche cromatiche delle colonie su Hektoen Enteric Agar possono essere interpretate come segue.<sup>7</sup>

- Colonie blu-verdastre, verde chiaro o trasparenti con centro nero: nessuna fermentazione degli zuccheri, produzione di H<sub>2</sub>S: sospetta presenza di *Salmonella*.
- Colonie blu-verdastre, verde chiaro o trasparenti: nessuna fermentazione degli zuccheri, assenza di H<sub>2</sub>S: sospetta presenza di *Shigella* o di *Salmonella* H<sub>2</sub>S negativa.
- Colonie gialle-arancio con un precipitato giallo arancio: fermentazione di lattosio, saccarosio o salicina, assenza di H<sub>2</sub>S: assenza di *Salmonella* e/o *Shigella*.
- Colonie da salmone ad arancio: fermentazione della salicina, assenza di H<sub>2</sub>S: assenza di *Salmonella* e/o *Shigella*.
- Colonie gialle, da salmone ad arancio con centro nero: fermentazione di lattosio o saccarosio o salicina, presenza di H<sub>2</sub>S: probabile assenza di *Shigella* e di *Salmonella*, fatta eccezione per i rari ceppi di *Salmonella* lattosio positivi.

**10 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE**

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.<sup>7</sup>





CEPPI DI CONTROLLO		INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<b>CHROMOGENIC SALMONELLA AGAR</b>			
S. Typhimurium	ATCC 14028	35-37°C / 18-24 h / A	buona crescita, colonie color magenta
S. Enteritidis	ATCC 13076	35-37°C / 18-24 h / A	buona crescita, colonie color magenta
<i>E. aerogenes</i>	ATCC 13048	35-37°C / 18-24 h / A	crescita, colonie verdi-blu
<i>P. aeruginosa</i>	ATCC 27853	35-37°C / 18-24 h / A	crescita inibita
<b>HEKTOEN ENTERIC AGAR</b>			
S.Typhimurium	ATCC 14028	35-37°C / 18-24h / A	crescita, colonie verdi con centro nero
<i>S.flexneri</i>	ATCC 12022	35-37°C / 18-24h / A	crescita, colonie verde chiaro
<i>E.faecalis</i>	ATCC 29212	35-37°C / 18-24h / A	inibito
<i>E.coli</i>	ATCC 25922	35-37°C / 18-24h / A	parzialmente inibito, colonie da giallo a salmone

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

## 11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di piastre pronte all'uso a due settori e delle materie prime impiegate per la produzione (terreni in polvere Chromogenic Salmonella Agar, REF 405350 ed Hektoen Enteric Agar, REF 401541) vengono testati per la produttività, la specificità e la selettività, avendo come riferimento un lotto precedentemente approvato e considerato come Lotto di Riferimento.

### CHROMOGENIC SALMONELLA AGAR

La produttività è testata con metodo quantitativo con i ceppi target S.Enteritidis ATCC 13076 e S.Typhimurium ATCC 14028; le piastre vengono inoculate con diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione di colonie ed incubate a 35-37°C per 18-24 ore. Le colonie sono contate sul Test Batch (TB) e sul Reference Batch (RB) e viene calcolato il rapporto di produttività ( $Pr = \text{UFC}_{\text{TB}} / \text{UFC}_{\text{RB}}$ ). Se  $Pr \geq 0,7$  e se il colore delle colonie è tipico (colonie magenta) i risultati sono considerati accettabili e conformi alle specifiche.

La specificità viene valutata con tecnica ecometrica semiquantitativa inoculando *E.aerogenes* ATCC 13048, che coltiva con colonie blu-verdi.

La selettività viene valutata con metodo Miles-Misra modificato, inoculando le piastre con diluizioni decimali in soluzione salina da  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  di una sospensione 0,5 McFarland dei ceppi non target *E.coli* ATCC 8739, *P.vulgaris* ATCC 13315, *A.calcoaceticus* ATCC 19606, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *A.hydrophila* ATCC 7966 *E.faecalis* ATCC 19433, *Mucor* CBM1. *A.hydrophila* è parzialmente inibita e sviluppa colonie color magenta, *E.coli* è parzialmente inibito e coltiva con colonie incolori, la crescita degli altri ceppi non target è totalmente inibita.

### HEKTOEN ENTERIC AGAR

La produttività del terreno è valutata con metodo ecometrico semiquantitativo, con incubazione a 35-37°C per 18-24 ore, con 6 ceppi target: S.Enteritidis NCTC 5188, S.Typhimurium ATCC 14028, S.Gallinarum di isolamento clinico, *S.arizonae* di isolamento clinico, *S.flexneri* ATCC 12022, *S.sonnei* ATCC 9290. Le colonie di *Salmonella* appaiono di colore verdi con centro nero, le colonie di *Shigella* si presentano verde chiaro; sono anche valutate le cariche microbiche di questi ceppi e se esse sono comparabili nei due lotti, i risultati sono giudicati conformi alle specifiche.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate con metodo Miles Misra modificate diluizioni di una sospensione con densità pari a McFarland 0,5 di un ceppo non target Gram positivo (*E.faecalis* ATCC 29212) e di 6 ceppi non-target Gram negativi: *P.mirabilis* ATCC 10005, *P.vulgaris* ATCC 9484, *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC 27736, *C.freundii* ATCC 8090, *E.aerogenes* ATCC 13048. Dopo incubazione a 35-37°C per 18-24 ore in aerobiosi, *E.faecalis* risulta completamente inibito, la crescita dei ceppi Gram negativi non target risulta parzialmente inibita con lo sviluppo di colonie con le tipiche caratteristiche cromatiche.

Chromogenic Salmonella Agar è stato valutato da Babic-Ergec et al.<sup>10</sup> su 3000 coproculture, delle quali 45 positive per *Salmonella*, avendo come riferimento il terreno SS Agar. Gli autori riportano una sensibilità del 100% ed una specificità del 99% nell'isolamento e nell'identificazione preliminare delle colonie di *Salmonella*.

In un altro studio indipendente<sup>11</sup>, 50 ceppi d'isolamento clinico di *Salmonella*, in coltura pura, hanno dato tutti reazioni cromatiche specifiche; tra gli altri 80 ceppi di batteri Gram negativi testati non appartenenti al genere *Salmonella*, 3 ceppi su 3 di *P.aeruginosa* e 1 ceppo su 3 di *A.baumannii* hanno fornito risultati cromatici simili a *Salmonella* spp.(colonie rosso-rosa), i restanti 76 ceppi di *Enterobacteriaceae* hanno dato reazioni cromatiche non tipiche; 20 ceppi su 20 di batteri Gram positivi sono stati totalmente inibiti.

Le prestazioni del Chromogenic Salmonella Agar sono state valutate con uno studio interno, confrontando le piastre di agar cromogeno selettivo con Hektoen Enteric Agar. Produttività, selettività e specificità sono state valutate con tecnica ecometrica semiquantitativa, incubando a 35-37 ° C per 18-24 ore, usando 43 ceppi batterici: 8 ceppi target e 35 ceppi non target. 8 ceppi di *Salmonella*, inclusi 2 ceppi di S.Typhi, hanno mostrato una buona crescita con colonie rosso magenta; 3 ceppi di *Shigella* hanno mostrato una crescita più scarsa rispetto a HEA con colonie incolori; 22 ceppi di *Enterobacteriaceae* appartenenti a 9 diversi generi hanno mostrato una crescita più scarsa rispetto a HEA con colonie incolori o blu-verdi; 4 ceppi di *P.aeruginosa* sono stati totalmente inibiti; 2 ceppi di batteri non fermentanti sono stati totalmente inibiti e *A.hydrophila* è cresciuta con colonie rosso magenta; 1 ceppo Gram-positivo è stato totalmente inibito e 1 ceppo di lievito è stato parzialmente inibito mostrando colonie incolori.

Il terreno in polvere Hektoen Enteric Agar preparato da Biolife è stato testato da Silvia King per l'isolamento di *Salmonella* e *Shigella* dalle feci, con risultati comparabili a quelli ottenuti con il terreno preparato nel proprio Laboratorio.<sup>12</sup>

## 12 - LIMITI DEL METODO

- Su Chromogenic Salmonella Agar possono coltivare, con colonie rosso-rosa, ceppi di *Pseudomonas*, *Acinetobacter* ed *Aeromonas* resistenti agli agenti antimicrobici del terreno, differenziabili da *Salmonella* con il test dell'ossidasi.
- Il tasso di crescita sulle piastre di Chromogenic Salmonella Agar dipende anche dalle richieste nutrizionali delle salmonelle. È possibile che certi ceppi con particolari caratteristiche metaboliche non crescano sul terreno o crescono privi di colore (es. *Salmonella enterica* serovar Dublin cresce con colonie bianche).
- Le colonie di *Proteus* spp. non fermentanti il saccarosio o la salicina su Hektoen Enteric Agar possono mimare le caratteristiche culturali di *Salmonella* o *Shigella*. Essi possono essere differenziati osservando le caratteristiche cromatiche su Chromogenic Salmonella Agar.
- Alcuni ceppi di *Shigella* e *Salmonella* fermentanti il lattosio possono crescere con caratteristiche simili ai coliformi e non essere riconosciuti su Hektoen Enteric Agar. Tali ceppi sviluppano colonie caratteristiche su Chromogenic Salmonella Agar.
- Non incubare per più di 24 ore poiché può verificarsi una perdita del colore giallo/salmone delle colonie su Hektoen Enteric Agar, a causa dell'utilizzo dei peptoni con produzione di alcalinità.<sup>7</sup>





- La presenza di cristalli nel contesto del terreno Hektoen Enteric Agar, che si possono formare durante la conservazione a 2°C / 8°C, non inficia la qualità dell'analisi.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche, morfologiche ed emolitiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- I terreni di coltura qui descritti sono da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

**13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE**

- Il prodotto qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- I terreni di coltura qui descritti contengono materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it) il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

**14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ**

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

**15 - BIBLIOGRAFIA**

- Istituto Superiore di Sanità Le infezioni da Salmonella: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza. Caterina Graziani, Pasquale Galetta, Luca Busani, Anna Maria Dionisi, Emma Filetici, Antonia Ricci, Alfredo Caprioli, Ida Luzzi 2005, 49 p. Rapporti ISTISAN 05/27
- ISO 6579-1:2017 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella.
- ISO19250:2010 Water quality — Determination of Salmonella species
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- ISO 21567 :2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of Shigella spp.
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM) Chapter 5: Salmonella. Rev 12/2019.
- Jan Hudzicki. Hektoen Enteric Agar Protocol. American Society for Microbiology. 11 November 2010.
- Baron EJ, Specimen Collection, Transport and Processing;Bacteriology. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington,DC: American Society for Microbiology; 2015. p.270.
- Strockbine NA, Bopp CA, Fields PI, Kaper JB, Nataro JP. Escherichia, Shigella and Salmonella. In Jorgensen JH, Carrol KC, Funke G et al. editors. Manual of clinical microbiology, 11th ed. Washington,DC: American Society for Microbiology; 2015. p.685.
- Babic-Erceg A et al. 12th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Milan, April 24-27, 2002
- Andreoni S. et al. Microbiologia Medica, 2002.
- King S. Department of Microbiology, Cook County Hospital, Chicago. Personal communication.1968.

**TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI**

<b>REF</b> Numero di catalogo	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Non riutilizzare	Fragile maneggiare con cura

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 3	Aggiornamento del layout e del contenuto in accordo a IVDR 2017/746	09/2021

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

