

ENTEROHAEMOLYSIN AGAR BASE

TERRENO PER LA RICERCA DI ENTEROEMOLISINA ENTEROEMORRAGICA (E- Hly)
PER IL TEST DEL FENOTIPO DI *E. COLI*

CONFEZIONI

Cod. 70.246

Conf. 500 g

FORMULA g / l

PEPTONI	20,0
SODIUM CHLORIDE	5,0
CALCIUM CHLORIDE	1,1
AGAR	14,5

pH FINALE 7.2 ± 0.2 a 25°C

PREPARAZIONE

Sospendere 40,6 g di terreno in 1 litro di acqua distillata. Miscelare a caldo con agitazione continua, per una completa ed omogenea dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 min

Raffreddare a 45°- 50°C, sotto agitazione. **Aggiungere, in condizioni asettiche, 20 – 40 ml di emazie di montone lavate**, in modo tale da ottenere una concentrazione finale pari al 2 -4%.

Distribuire 20 ml di terreno, completo di emazie di montone, in piastre petri sterili da 90 mm di diametro e lasciar solidificare.

UTILIZZO

Escherichia coli è una delle specie anaerobie –facoltative, predominanti nell'intestino umano ed animale. Un gruppo di *E.coli*, tuttavia, è divenuto emergente come agente patogeno nelle forme diarroiche. Il gruppo include : *E.coli* enterotossigena (ETEC), *E.coli* enteropatogena (EPEC), *E.coli* enteroemorragica (EHEC), *E.coli* enteroinvasiva (EIEC), Fra questi, grande rilevanza assume l'*E.coli* enteroemorragica (EHEC), che può determinare diarrea sanguinolenta per il consumo di acque e/o alimenti (latte crudo, germogli di verdura ,carne macinata) contaminate, da questa specie.

EHEC, sono caratterizzati dalla produzione di verotossina o tossine Shiga (Stx). Gli studi condotti sul materiale clinico, evidenzia che circa il 90% degli EHEC, compresi tutti gli EHEC O157, presentano la formazione di enterohaemolysina, come caratteristica fenotipica.

ENTEROHAEMOLYSIN AGAR BASE è un terreno particolarmente adatto per evidenziare l'enterohaemolysina , consentendo di identificare l'*E.coli* enteroemorragica (EHEC), anche in bassa concentrazione e/o in presenza di abbondante flora contaminante.

PROCEDURA TECNICA

Inoculare direttamente il campione sul terreno con la tecnica dello striscio

Incubare a 36 ° C per 20 ore

Dopo 3-4 ore di incubazione è rilevabile l'emolisi da α emolisina, che appare come un alone chiaro, intorno all'area di inoculo e/o di confluenza di crescita.

L'enterohaemolysina (E-HLY) è visibile dopo circa 20 ore di incubazione a 36°C che appare come emolisi più piccola e più torbida dell'emolisi da α emolisina.

Le colonie con emolisi da enterohaemolysina, devono essere isolate e sottoposte ai test di conferma per le tossine

PROTOCOLLO CONTROLLO QUALITA'

Inoculo 100 CFU/ml nel terreno ENTEROHAEMOLYSIN AGAR BASE + 4% emazie di montone lavate

Incubazione a 36°C per 20 h

MICROORGANISMI	N°RKI ROBERT KOCH INSTITUT	EMOLISI α emolisina dopo 3 ore	EMOLISI COMPLETA α emolisina dopo 18 -20 ore	E-HLY dopo 18 -20 ore
<i>E.coli</i> O157:H -	E 32511	-	-	+
<i>E.coli</i> O157:H 7	RL 467	-	-	+
<i>E.coli</i> O4:K3:H5	U4 -41	+	+	-
<i>E.coli</i> O2:K1:H4	KK7/1	-	-	-

La crescita dipende anche dalle esigenze di ogni microorganismo. È quindi possibile che alcuni ceppi particolari non riescano a svilupparsi

INFORMAZIONI SU SICUREZZA E SMALTIMENTO

Norme protettive vedi scheda di sicurezza. Il prodotto deve essere eliminato come rifiuto speciale secondo le norme vigenti.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI:

Questo prodotto è classificato, ai sensi del Reg(CE) 1272/2008 (CLP), come non pericoloso e non contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$. È un prodotto per solo uso professionale da usarsi unicamente per diagnostica in vitro e va manipolato con le precauzioni di asepsi da personale specializzato. Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza o se presenta segni di deterioramento

Per qualsiasi comunicazione urgente inviare una mail al seguente indirizzo: **microbio@tin.it**

CONSERVAZIONE E STABILITA'

Terreno disidratato: deve essere conservato alla temperatura di 2-22°C nella sua confezione ben chiusa.

Terreno ricostituito dall'operatore: deve essere conservato a 2-8°C. La durata è di 1 settimana.

BIBLIOGRAFIA

1. Beutin, L. et al. (1989) J. Clin. Microbiol. 27, 2559-2564.
2. Beutin, L. et al. (1994) Med. Microbiol. Immunol. 183, 13-21.
3. Beutin, L. et al. (1988) Zentralbl. Bakteriол. Hyg. A 267, 576-588.
4. Beutin, L. et al. (1994) Klein. Lab. 40, 193-201.
5. Geier, D. (1992) Tesi in materia di medicina veterinaria della Libera Università di Berlino