

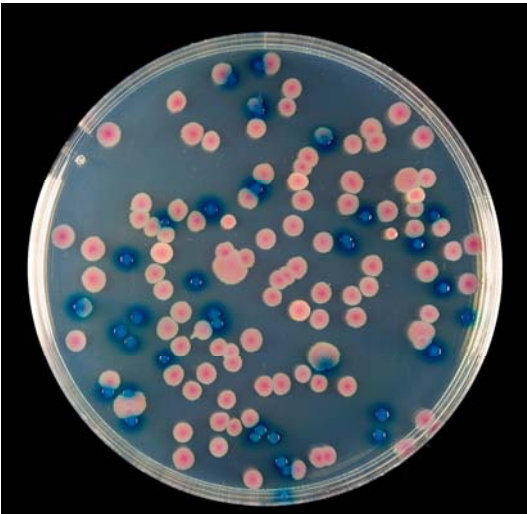
ChromArt

## SENECA

(Simultaneous Enumeration Enterobacteriaceae E.coli Coliforms Agar)

**Terreno cromogeno di base, terreni pronti all'uso e supplemento selettivo/differenziale per il conteggio simultaneo delle *Enterobacteriaceae* e di *Escherichia coli* oppure di *E.coli* e coliformi oppure di *E.coli*.**

### RISPOSTA CULTURALE



SENECA: *E.coli* colonie blu; *K.pneumoniae* e *S.enteritidis* (colonie rosse)

### IMPIEGO PREVISTO

SENECA (Simultaneous Enumeration Enterobacteriaceae E.coli Coliform Agar) è un terreno di base che, addizionati di appropriati composti selettivi e cromogeni, consente di determinare in 24 ore senza procedere ad alcuna prova di conferma, *Enterobacteriaceae*, *E.coli* e coliformi negli alimenti ed in altri campioni di interesse igienistico.

### PRINCIPIO

Il conteggio di *E.coli* è effettuato attraverso la determinazione dell'enzima  $\beta$ -D-glucuronidasi.

Il conteggio delle *Enterobacteriaceae* è effettuato attraverso l'aggiunta al terreno di base di un supplemento specifico (SENECA EE-EC Supplement) che fornisce alle colonie una colorazione rosa-rosso.

Il conteggio dei coliformi è effettuato attraverso l'evidenziazione della  $\beta$ -D-galattosidasi.

### DESCRIZIONE

Con l'aggiunta di appropriati supplementi, il terreno completo risulta contenere substrati cromogeni ed agenti selettivi che consentono il conteggio, in 24 ore senza procedere ad alcuna prova di conferma, di :

- *E.coli*  $\beta$ -D-glucuronidasi positivo, oppure
- *E.coli*  $\beta$ -D-glucuronidasi positivo + *Enterobacteriaceae*, oppure
- *E.coli*  $\beta$ -D-glucuronidasi positivo + coliformi.

SENECA rappresenta uno sviluppo del terreno EE-EC Agar, che Biolife ha sviluppato e proposto, prima al mondo, per la determinazione simultanea di *E.coli* ed *Enterobacteriaceae*.

L'insieme dei terreni SENECA, consente di risparmiare tempo e di ottimizzare le metodiche di laboratorio.

### FORMULE TIPICHE

#### SENECA Base

##### Terreno in polvere e pronto in flacone(g/L)

Peptoni	15.00
Carboidrati	2.5
Agenti selettivi	0.5
Tampone fosfato	4.3
Composti cromogeni	0.12
Agar	15.00

#### SENECA EE-EC Supplement (per flacone)

Agenti antimicrobici	4,5 mg
Composti cromogeni	6,25 mg

<b>SENECA EE-CO (flaconi pronti)</b>	<b>g/L</b>
Peptoni	15.00
Carboidrati	2.5
Agenti selettivi	0.5
Tampone fosfato	4.3
Composti cromogeni	0.210
Agenti antimicrobici	3.5 mg
Agar	15.00

<b>SENECA EE-EC (piastre pronte)</b>	<b>g/L</b>
Peptoni	15.00
Carboidrati	2.5
Agenti selettivi	0.5
Tampone fosfato	4.3
Composti cromogeni	0.132
Agenti antimicrobici	9,0 mg
Agar	15.00

**TERRENO IN POLVERE: METODO PREPARAZIONE**

Sospendere 18,71 g di terreno SENECA Base in 500 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, autoclavare a 121°C per 15 minuti e raffreddare a 45-50°C.

**Per il conteggio di *E.coli*:** utilizzare tal quale.

**Per il conteggio simultaneo di *E.coli* + *Enterobacteriaceae*:** sciogliere il contenuto di una fiala di SENECA EE-EC Supplement (REF 4240023) con 1 mL di etanolo, mescolare e quindi aggiungere 1 mL di acqua distillata sterile; aggiungere al terreno di base autoclavato e raffreddato a 45-50°C

**PREPARAZIONE DEI TERRENI PARTENDO DAI FLACONI PRONTI ALL'USO**

**Per il conteggio di *E.coli*:** in un bagnomaria termoregolato a 100°C introdurre i flaconi di 515582S3 SENECA Base e riscaldare fino ad ebollizione ed a dissoluzione completa. Raffreddare a 45-50°C e distribuire in piastra

**Per il conteggio simultaneo di *E.coli* + *Enterobacteriaceae*:** In un bagnomaria termoregolato a 100°C introdurre i flaconi di 515582S3 SENECA Base e riscaldare fino ad ebollizione ed a dissoluzione completa. Raffreddare a 45-50°C. Sciogliere il contenuto di una fiala di SENECA EE-EC Supplement (REF 4240023S) con 3 mL di etanolo, mescolare e quindi aggiungere 3 mL di acqua distillata sterile; aggiungere 1 mL di supplemento ad un flacone da 200 mL; suddividere il rimanente supplemento in aliquote da 1 mL e conservare a -20°C per utilizzi futuri.

**Per il conteggio simultaneo di *E.coli* + Coliformi:** in un bagnomaria termoregolato a 100°C introdurre i flaconi di 515582C3 SENECA EC-CO e riscaldare fino ad ebollizione ed a dissoluzione completa. Raffreddare a 45-50°C e distribuire in piastra.

**CARATTERISTICHE CHIMICO FISICHE**

Aspetto del terreno in polvere: polvere fine, omogenea di colore beige

Aspetto del terreno in piastra: giallo scuro limpido

Aspetto del terreno in flacone: giallo scuro limpido

Aspetto del supplemento selettivo: pastiglia rosa, soluzione giallo chiaro limpida dopo ricostituzione

pH finale del terreno completo a 20-25°C: 7,3 ± 0,2

**ABBINAMENTI POSSIBILI PER LE DIVERSE SPECIFICHE APPLICAZIONI DEL TERRENO SENECA****Conteggio di *E.coli* + *Enterobacteriaceae***

<b>Terreno di base in polvere</b>	+	Supplemento selettivo 4240023 SENECA EE-EC Supplement (10x500mL) oppure 4240023S SENECA EE-EC Supplement (10x1,2L)
oppure <b>Terreno di base in flacone:</b>	+	Supplemento selettivo 4240023S SENECA EE-EC Supplement (10x1,2L)
oppure <b>Terreno in piastra</b>		545582S SENECA EE-EC

**Conteggio di *E.coli* + Coliformi**

Terreno pronto all'uso in flacone: 515582C3: SENECA EC-CO (6x200mL)

**Conteggio di *E.coli***

Terreno in polvere:	40558S2 SENECA Base
oppure	
Terreno in fialone:	515582S3 SENECA Base (6x200mL)

**METODO D'IMPIEGO**

Impiegare con le tecniche standard di laboratorio con la semina di un'unica piastra: in superficie (0,1 mL di campione o delle sue diluizioni decimali), oppure per inclusione (1 mL di campione o delle sue diluizioni decimali), oppure su membrane filtranti (filtrare un volume appropriato e trasferire il filtro su piastra da 55mm con il terreno prescelto). Incubare per  $24 \pm 2$  h a  $37^\circ \pm 1$  C. In caso di crescita leggera, di pigmentazione scarsa o di assenza di crescita, re-incubare per ulteriore 24 ore. In ogni caso contare le piastre che presentino meno di 150 colonie tipiche.

**Conteggio di *E.coli* + *Enterobacteriaceae***

Contare come *Enterobacteriaceae* tutte le colonie rosse-rosa e le colonie blu.  
Contare come *E.coli*  $\beta$ -D glucuronidasi positivo tutte le colonie blu.

**Conteggio di *E.coli* + Coliformi**

Contare come Coliformi tutte le colonie rosso-viola e le colonie blu.  
Contare come *E.coli*  $\beta$ -D glucuronidasi positivo tutte le colonie blu.

**Conteggio di *E.coli***

Contare come *E.coli*  $\beta$ -D glucuronidasi positivo tutte le colonie blu.

**CONTROLLO QUALITÀ**

E' responsabilità dell'utilizzatore eseguire il controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Nella tabella che segue sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.

Controllo produttività:

*E.coli* ATCC 25922: crescita, colonie blu

Controllo specificità

*E.aerogenes* ATCC 13048: crescita, colonie rosse

Controllo selettività:

*S.aureus* ATCC 25923: inibito

*P.aeruginosa* ATCC 14207: inibito

Incubazione per 24 ore a 37°C

**LIMITI DEL METODO**

- Una volta ricostituito il supplemento SENECA EE-EC Supplement può presentare un lieve precipitato che non interferisce sulle sue prestazioni.
- Alcuni ceppi di *E.coli* sono  $\beta$ -D glucuronidasi negativi e non possono essere determinati con il terreno SENECA
- Alcuni ceppi diversi da *E.coli* (es. alcuni ceppi di *Salmonella*) posseggono l'enzima  $\beta$ -D-glucuronidasi e quindi danno luogo a falsi positivi.
- Nel caso si sospetti una forte contaminazione, nella tecnica di conteggio per inclusione, dopo l'inoculo dello strato di base e la sua solidificazione, aggiungere un strato di superficie di circa 5 mL dello stesso terreno.

**CONSERVAZIONE**

**Terreno in polvere:** conservare a 2-8°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperta la confezione, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Conservare il terreno in piastra preparato in laboratorio per un massimo di 15 giorni a 2-8°C, al riparo della luce.

Conservare il terreno in fialone preparato in laboratorio per un massimo di 1 mese a 2-8°C, al riparo della luce.

**Supplemento selettivo:** conservare a 2-8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta ricostituito il supplemento, usarne il contenuto entro 24 ore. Nel caso non si utilizzi completamente suddividere in aliquote e conservare a -20°C per non più di 7 giorni. Non congelare e scongelare per più di una volta.

**Terreni pronti in fialone:** conservare a 2-8°C nella confezione originale, al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

**Terreno pronto in piastra:** conservare a 2-8°C nella confezione originale, al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza

#### PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Consultare le schede di sicurezza dei prodotti prima del loro uso.

I prodotti qui descritti sono solo per uso di Laboratorio. Devono essere usati da operatori adeguatamente addestrati. Operare con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

#### BIBLIOGRAFIA

- Bascomb, S. 1987. Enzyme tests in bacterial identification. *Methods Microbiol.* 19:105-160.
- M Manafi, W Kneifel, and S Bascomb (1991) Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*, Sept. 1991, p. 335-348
- Watson, R. R. 1976. Substrate specificities of aminopeptidases: a specific method for microbial differentiation, p. 1-14. In J. R. Norris (ed.), *Methods in microbiology*, vol. 9. Academic Press(London), Ltd., London.

#### CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	Cat. N°	Confezione
SENECA Base	Terreno in polvere	405582S2	500 g (13.4 L)
SENECA Base	Flaconi pronti all'uso	405582S2	6 x 200 ml
SENECA EE-EC Supplement	Supplemento liofilo	4240023S	10 fiala, ciascuna per 1200 mL di terreno
SENECA EE-EC Supplement	Supplemento liofilo	4240023	10 fiale, ciascuna per 500 mL di terreno
SENECA EC-CO	Flaconi pronti all'uso	515582C3	6 x 200 ml
SENECA EE-EC	piastre Ø 90 mm	545582S	20 piastre



Biolife Italiana S.r.l., Viale Monza 272, Milano, Italia.