

**ChromArt**

SENECA

(Simultaneous Enumeration Enterobacteriaceae E.coli Coliforms Agar)

**Terreno in polvere di base, terreni pronti all'uso in flacone ed in piastra
supplemento selettivo/differenziale**

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

1 - DESTINAZIONE D'USO

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

2- COMPOSIZIONI

TERRENO IN POLVERE E PRONTO IN FLACONE

FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)*

SENECA BASE

Peptoni	15,00 g
Carboidrati	2,50 g
Agenti selettivi	0,50 g
Tampone fosfato	4,30 g
Composti cromogeni	0,12 g
Agar	15,00 g

PIASTRE PRONTE - FORMULA TIPICA*

SENECA EE-EC

Peptoni	15,000 g
Carboidrati	2,500 g
Agenti selettivi	0,500 g
Tampone fosfato	4,300 g
Composti cromogeni	0,132 g
Agenti antimicrobici	0,009 g
Agar	15,000 g
Acqua purificata	1000 mL

TERRENO PRONTO IN FLACONE- FORMULA TIPICA

SENECA EC-CO

Peptoni	15,00 g
Carboidrati	2,50 g
Agenti selettivi	0,50 g
Tampone fosfato	4,30 g
Composti cromogeni	0,21 g
Agenti antimicrobici	3,5 mg
Agar	15,00 g
Acqua purificata	1000 mL

SUPPLEMENTO – CONTENUTO DEI FLACONI

SENECA EE-EC Supplement

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

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

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Il conteggio di *E. coli* è effettuato attraverso la determinazione dell'enzima β -D-glucuronidasi; il conteggio dei coliformi è effettuato attraverso l'evidenziazione della β -D-galattosidasi.¹⁻³ 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.

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* β -D-glucuronidasi positivo, oppure
- *E. coli* β -D-glucuronidasi positivo + *Enterobacteriaceae*, oppure
- *E. coli* β -D-glucuronidasi positivo + coliformi.

SENECA rappresenta uno sviluppo del terreno EE-EC Agar, che Biolife ha ideato 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.

4A- PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

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; addizionare al terreno di base autoclavato e raffreddato a 45-50°C

4B- PREPARAZIONE DEI TERRENI IN FLACONE

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.

4C – RIASSUNTO DEGLI ABBINAMENTI POSSIBILI PER LE DIVERSE SPECIFICHE APPLICAZIONI DEL TERRENO SENECA**Conteggio di *E.coli* + *Enterobacteriaceae***

Terreno SENECA Base 405582S	+	Supplemento selettivo 4240023 SENECA EE-EC Supplement (10x500mL) oppure 4240023S SENECA EE-EC Supplement (10x1,2L)
oppure Terreno in flacone SENECA Base 5155823:	+	Supplemento selettivo 4240023S SENECA EE-EC Supplement (10x1,2L)
oppure Terreno in piastra		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 flacone 515582S3 SENECA Base (6x200mL)

5 - 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 SENECA EE-EC:	pastiglia rosa, soluzione giallo chiaro limpida dopo ricostituzione
Aspetto del supplemento selettivo SENECA EC-CO:	pastiglia incolore, soluzione limpida incolore dopo ricostituzione
pH finale del terreno completo a 20-25°C:	7,3 ± 0,2

6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
SENECA Base	Terreno in polvere	405582S2	500 g (13.4 L)
SENECA Base	Flaconi pronti all'uso	515582S3	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 pronte all'uso	545582S	20 piastre Ø 90 mm

7 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, termostato ed altra strumentazione di laboratorio, piastre di Petri sterili, flaconi o beute autoclavabili, anse da microbiologia, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

8 - CAMPIONI

Acque, alimenti, mangimi, campioni della filiera alimentare. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni operare in accordo alle norme di buona prassi di laboratorio e fare riferimento alle norme ed agli Standard internazionali applicabili.

9 - PROCEDURA DELL'ANALISI

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 ± 2 h a 37° ± 1 C. In caso di crescita leggera, di pigmentazione scarsa o di assenza di crescita, re-incubare per ulteriore 24 ore.

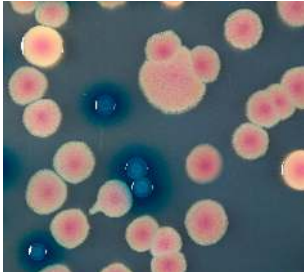
In ogni caso contare le piastre che presentino meno di 150 colonie tipiche.





10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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



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

Conteggio di *E. coli* + *Enterobacteriaceae* (SENECA Base 405582S o 515582S3 + SENECA EE-EC Supplement 4240023 o 4240023S oppure piastre pronte SENECA EE-EC 545582).

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

Conteggio di *E. coli* + Coliformi (flaconi pronti all'uso SENECA EC-CO 515582C3)

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

Conteggio di *E. coli* (SENECA Base 405582S o 515582S3)

Contare come *E. coli* β -D glucuronidasi positivo tutte le colonie blu.

11 - 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.

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

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

12 - 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*, in particolare quelli appartenenti al sierotipo O157:H7, sono per lo più β -glucuronidasi negativi.⁴ Di conseguenza, alcuni ceppi di *E. coli*, compresi quelli patogeni, non verranno rilevati su SENECA Base e saranno riconosciuti come coliformi su SENECA EC-CO o come *Enterobacteriaceae* su SENECA EE-EC.
- L'attività della β -glucuronidasi può essere manifestata anche da alcuni altri membri delle *Enterobacteriaceae*, in particolare *Shigella*⁵ e *Salmonella*⁶.
- 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.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- I prodotti qui descritti sono da impiegare per controlli microbiologici, sono per uso professionale e devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il terreno di coltura ed il supplemento qui descritti devono essere usati congiuntamente in accordo al metodo di preparazione indicato.
- I terreni in polvere ed i supplementi contenuti antibiotici devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare le schede di sicurezza.
- Il terreno di coltura in polvere e pronto all'uso in piastra e l'arricchimento liquido qui descritti contengono materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare i prodotti con le precauzioni di sicurezza specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web 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 i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura, supplemento o agenti microbici.
- 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.
- Fare attenzione quando si aprono i flaconi con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Il terreno pronto in flacone è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave a vapore.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smettere il terreno di base ed il supplemento non utilizzati ed il terreno inocolato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiali per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza dei prodotti qui descritti sono disponibili sul sito 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

Terreno in polvere - Conservare a +2°C /+8°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

Supplemento selettivo - Conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2-8 °C. Non utilizzare oltre questa data. Una volta ricostituito, il supplemento deve essere usato in giornata.

Piastre pronte all'uso - 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).

Flaconi pronti all'uso - 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. Non utilizzare oltre questa data. Dopo l'apertura della scatola, i flaconi possono essere utilizzati fino alla data di scadenza. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare i flaconi se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato). Il terreno in flacone può essere sciolto a 100°C per una sola volta.

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Bascomb S. Enzyme tests in bacterial identification. *Methods Microbiol* 1987; 19:105-160.
2. Manafi M, Kneifel W, Bascomb S Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. *Micr Rev*, Sept. 1991, p. 335-348
3. Watson RR. Substrate specificities of aminopeptidases: a specific method for microbial differentiation, p. 1-14. In J. R. Norris (ed.), *Methods in microbiology*, vol. 9. 1976, Academic Press (London), Ltd., London.
4. Feng P, Lampel KA, Karch H, Whittam TS. Genotypic and phenotypic changes in the emergence of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Infect. Dis.* 177: 1750-1753.
5. Kilian M. & Bulow P. Rapid diagnosis of Enterobacteriaceae. Detection of bacterial glycosidases. *Acta Pathol Microbiol Scand Sect B.* 1976, 84: 245-251
6. Le Minor, Buisnière J, Novel G, Novel M. Relation entre le sérotype et l'activité β -glucuronidasique chez les *Salmonella*. *Ann Microbiol (Paris)* 1978; 129B (2) :155-165.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 3	Modifiche del contenuto dei capitoli "Precauzioni ed avvertenze", "Conservazione e validità", "Bibliografia" e del layout.	07/2021

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

