



ASPARAGINE ENRICHMENT BROTH

Terreno di coltura in polvere

1 – DESTINAZIONE D'USO

Terreno liquido per il rilevamento presuntivo e il conteggio di *Pseudomonas aeruginosa* in campioni di acqua.

2 – COMPOSIZIONE

FORMULA TIPICA PER LITRO DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA *

DL-asparagina	3,0 g
Potassio fosfato bibasico	1,0 g
Magnesio solfato	0,5 g

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

3 – DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

P. aeruginosa è un patogeno ambientale opportunista caratterizzato da un elevato grado di adattabilità, in grado di crescere in acque con concentrazioni di nutrienti molto basse e di sopravvivere in acque disinfettate.¹

Asparagine Enrichment Broth è raccomandato da APHA² per il conteggio di *P. aeruginosa* nelle acque destinate alla balneazione mediante tecnica a tubi multipli.

Il terreno è una base strettamente minerale con asparagina come unica fonte di carbonio e azoto che viene convertito in acido aspartico da *P. aeruginosa*. I solfati di magnesio forniscono i cationi necessari per l'attivazione e la stimolazione della produzione di fluoresceina e picroianina. Il dipotassio idrogeno fosfato agisce come un sistema tampone.

4 - INDICAZIONI PER LA PREPARAZIONE DEL TERRENO DISIDRATATO

Sospendere 4,5 g in 1000 mL di acqua purificata fredda. Mescolare accuratamente e scaldare leggermente per sciogliere completamente la polvere, se necessario. Distribuire 10 mL in provette e sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Per inoculi da 10 mL, utilizzare provette con 10 mL di brodo a doppia concentrazione.

5 – CARATTERISTICHE FISICHE

Aspetto della polvere	Fine granulometria omogenea, bianca
Aspetto della soluzione	incolore, limpido con leggero precipitato
pH finale (20-25 °C)	7,0 ± 0,2

6 – MATERIALI FORNITI - CONFEZIONI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Asparagine Enrichment Broth	Terreno di coltura in polvere	40109512	500 g (111 L)

7 – MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Autoclave, bagnomaria, anse e pipette sterili, incubatore e attrezzature di laboratorio necessarie, provette, beute, terreni di coltura e reagenti ausiliari.

8 – CAMPIONI

Acque ricreative. Per la raccolta, la conservazione, il trasporto e la preparazione dei campioni, seguire le buone pratiche di laboratorio e fare riferimento agli standard e ai regolamenti internazionali applicabili.²

9 – PROCEDURA DELL'ANALISI

Eseguire un test MPN a cinque provette.

Usare 10 mL di brodo a concentrazione singola per inoculi di 1 mL o meno. Utilizzare 10 mL di brodo a doppia concentrazione per inoculi di 10 mL. Per le piscine possono essere necessarie diluizioni maggiori.

Incubare a 35-37°C per 24-48 ore.

10- LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo 24 ore e di nuovo dopo 48 ore di incubazione, esaminare le provette sotto una lampada UV a onde lunghe (luce nera) in una stanza buia.

La produzione di un pigmento fluorescente verde costituisce un test presuntivo positivo.

Confermare le provette positive inoculando 0,1 mL di coltura in Acetamide Broth e incubare a 36 ± 2 °C per 22 ± 2 h. Dopo l'incubazione, aggiungere da 1 a 2 gocce di reagente di Nessler ed esaminare le provette per la produzione di ammoniaca. Lo sviluppo di un colore che varia dal giallo al rosso mattone è un test confermato positivo per *P. aeruginosa*.

11 – CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del prodotto vengono rilasciati alla vendita dopo l'esecuzione dei test del Controllo Qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. Tuttavia, è facoltà dell'utilizzatore eseguire il proprio Controllo di Qualità in conformità alle normative locali applicabili, nel rispetto dei requisiti di accreditamento e dell'esperienza del Laboratorio. Di seguito sono riportati alcuni ceppi di prova utili per il controllo di qualità del terreno di coltura.

CEPPI DI CONTROLLO
P. aeruginosa ATCC 14207

INCUBAZIONE T° / T - ATM
35-37°C / 24 H / A

RISULTATI ATTESI
crescita, con anello verde fluorescente

A: incubazione aerobica; ATCC è un marchio di American Type Culture Collection.

12 – VALUTAZIONI DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo per ogni lotto di Asparagine Enrichment Broth disidratato viene sottoposto a test di produttività e selettività confrontando i risultati con un lotto di riferimento precedentemente approvato.





La produttività viene testata mediante il metodo delle diluizioni ad estinzione, inoculando 1 mL di appropriate diluizioni decimali degli organismi target nelle provette, incubando a 37°C per 24 ore e registrando sia la diluizione più alta che mostra la crescita che l'anello fluorescente verde nel lotto di riferimento (G_{RB}) e nel lotto di prova (G_{TB}). La produttività è testata con i seguenti ceppi target: *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* ATCC 14207, *P. aeruginosa* ATCC 10299, *P. aeruginosa* CB607. L'indice di produttività $G_{RB}-G_{TB}$ per ciascun ceppo testato deve essere ≤ 1 .

La selettività è testata con i seguenti ceppi non target: *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922. Dopo incubazione a 37°C per 48 ore, la crescita di *S. aureus* è totalmente inibita, mentre la crescita di *E. coli* è parzialmente inibita.

13 – LIMITI DEL METODO

- Asparagine Enrichment Broth è un terreno per l'identificazione presuntiva di *P. aeruginosa*. Per l'identificazione finale sono necessari ulteriori test di conferma.
- Si raccomanda di eseguire test biochimici, immunologici, molecolari o di spettrometria di massa sugli isolati da coltura pura per una completa identificazione.

14 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno di coltura è destinato al controllo microbiologico ed è per uso professionale; deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni
- Il terreno di coltura deve essere utilizzato secondo le indicazioni descritte. Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni.
- I terreni disidratati devono essere maneggiati con adeguate protezioni. Prima dell'uso, consultare le schede di sicurezza.
- Applicare le Buone Pratiche di Fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Tutti i campioni di laboratorio devono essere considerati infettivi.
- Evitare la contaminazione dell'area di laboratorio con il terreno di coltura, i supplementi ed i ceppi microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire i terreni ed i supplementi non utilizzati ed i terreni inoculati con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzati, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare i prodotti qui descritti come principi attivi per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- I Certificati d'Analisi e le Schede di Sicurezza 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 dei prodotti, 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.

15 – CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare a +10°C /+30°C al riparo della luce in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido sino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non usare oltre la data di scadenza. 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, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (es. modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi).

L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione e di controllo dei terreni in laboratorio e della validazione della loro shelf life, in funzione della tipologia e condizioni di conservazione applicate (temperatura e confezionamento).

16 - BIBLIOGRAFIA

- Briancesco R, Paduano S, Semproni M, Vitanza L, Bonadonna L. Behavior of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter aerogenes* in Water from Filter Jugs. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2020; 17: 8263.
- APHA Standards Methods for the Microbiological of Water and Wastewater. American Public Health Association, Washington D.C. 23rd, 2017.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

 REF Numero di catalogo	 LOT Numero di lotto	 Utilizzare entro	 Fabbricante	
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Date
Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del Layout	01/2023

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

