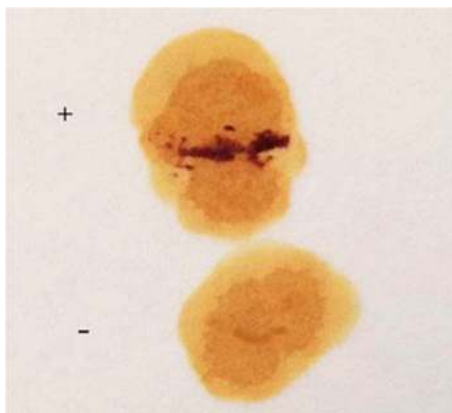


ACID PHOSPHATASE REAGENTS



Test della fosfatasi acida:
C. perfringens (+), *C. bifementans* (-)

1- DESTINAZIONE D'USO

Per il test di conferma delle colonie di *Clostridium perfringens* secondo ISO 14189 ed ISO 15213-2.

2 – COMPOSIZIONE

ACID PHOSPHATASE REAGENT -VIAL A

1-Naftilfosfato sale monosodico	0,08 g
Acido acetico glaciale	0,0012 mL
Sodio acetato	0,0016 g
Acqua purificata	4 mL

ACID PHOSPHATASE REAGENT -VIAL B

Fast Blu B	0,16 g
Acido acetico glaciale	0,0012 mL
Sodio acetato	0,0016 g
Acqua purificata	4 mL

3-DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

La fosfatasi acida catalizza l'idrolisi del naftilfosfato, rilasciando alfa-naftolo e fosfato e formando un colorante azoico con il Fast Blue B che provoca lo sviluppo di un colore viola.

Il test della fosfatasi acida è indicato come test di conferma di colonie di *C. perfringens* cresciute su TSC Agar e subcoltivate su agar sangue, secondo ISO 14189¹ e ISO 15213-2².

4-CARATTERISTICHE DEL REATTIVO

Acid Phosphatase Reagent- Vial A: 1-Naftilfosfato sale monosodico al 2% in tampone acetato, soluzione limpida incolore

Acid Phosphatase Reagent -Vial B: Fast Blu B al 4% in tampone acetato, soluzione torbida marrone-arancio con possibili precipitati.

(formulazioni in accordo alle concentrazioni riportate nelle norme ISO 14189 e 15213-2)

5-MATERIALI FORNITI

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Acid Phosphatase Reagents	Reagenti liquidi	192010	4 mL Vial A + 4 mL Vial B

Acid Phosphatase Reagent- Vial A: flaconcino con tappo contagocce contenente 4 mL di soluzione

Acid Phosphatase Reagent- Vial B: flaconcino con tappo contagocce contenente 4 mL di soluzione

Entrambi i reagenti sono pronti all'uso per l'esecuzione del test della fosfatasi acida.

6-MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Anse da microbiologia, carta da filtro, terreni di coltura, termostato, reagenti e terreni di coltura per l'identificazione delle colonie.

7-CAMPIONI

Il test è eseguito su colonie microbiche coltivate su piastre di Columbia Blood Agar o Blood Agar o altro adatto terreno in accordo alla norma ISO 14189 ed ISO 15213-2.

8 – PROCEDURA DELL'ANALISI

- Prelevare il campione dalla coltura di isolamento primario seminata su piastre di Blood Agar o Columbia Blood Agar o Tryptic Soy Agar.
- Incubare a 36 ± 2 °C per 21 ± 3 ore in anaerobiosi.
- Strisciare su carta da filtro alcune colonie cresciute sul terreno incubato come sopra descritto ed aggiungere 1-2 gocce di Acid Phosphatase Reagent- Vial A e subito dopo 1-2 gocce di Acid Phosphatase Reagent- Vial B.
- Attendere 3-4 minuti per la lettura dei risultati.

9-LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare l'area di reazione per la comparsa di un colore viola.

Test positivo: lo sviluppo di una colorazione viola dopo 3-4 minuti dall'aggiunta del reagente indica la positività al test della fosfatasi acida.

Test negativo: se non c'è sviluppo di colore viola, il test è considerato negativo.

Clostridium perfringens sviluppa colonie nere o da grigio a giallo-marrone su TSC Agar, positive al test della fosfatasi acida.

10-CONTROLLO QUALITÀ

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 facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio 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 positivo

C. perfringens ATCC 13124 sviluppo di colore viola

C. perfringens NCTC 8238 sviluppo di colore viola



Controllo negativo

C. bifermentans NCTC 506 nessuno sviluppo di colore viola

B. subtilis ATCC 6633 nessuno sviluppo di colore viola

ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection; NCTC: National Type Culture Collection

11- CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima dell'immissione sul mercato, un campione rappresentativo di tutti i lotti di reagenti per fosfatasi acida viene testato con ceppi positivi e negativi.

Ceppi fosfatasi positivi (sviluppo di colore violaceo entro 3-4 minuti): *C. perfringens* ATCC 13124, *C. perfringens* ATCC 12916, *C. perfringens* NCTC 13170.

Ceppi fosfatasi negativi (nessun cambiamento di colore entro 4 minuti): *C. bifermentans* NCTC 506, *B.subtilis* ATCC 6633.

12-LIMITI DEL METODO

- Le letture effettuate oltre i 4 minuti possono dare risultati dubbi o confusi.

13-PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il prodotto qui descritto è destinato a un 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.
- Questo prodotto è classificato come pericoloso dalle norme europee vigenti. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- I reagenti non sono sterili
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come reagenti, terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le strisce usate e le piastre inoculate con campioni o ceppi microbici secondo la legislazione locale vigente.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto 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

Conservare il prodotto nella confezione originale a +2/+8°C al riparo dalla luce diretta. Se correttamente conservato, il prodotto può essere utilizzato fino alla data di scadenza. Non utilizzare il prodotto oltre questa data. Il contenitore aperto può essere utilizzato fino alla data di scadenza. Ripetute aperture del contenitore non pregiudicano le prestazioni del prodotto. La presenza di precipitati nel reagente Vial B non influisce sulle prestazioni; tuttavia il reagente può essere filtrato prima dell'uso su carta da filtro.

15-BIBLIOGRAFIA

- ISO 14189:2013. Water quality-Enumeration of *Clostridium perfringens*-Method using membrane filtration.
- ISO 15213-2:2023 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Clostridium* spp. —Part 2: Enumeration of *Clostridium perfringens* by colony-count technique

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

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

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Revisione 3	Aggiornamento del contenuto e del layout	05/2023
Revisione 4	Aggiornamento normativo	03/2024

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

