

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

ΠΡΟΪΟΝ: PERFRINGENS AGAR BASE (ISO 7937) 
ΚΩΔΙΚΟΙ: 060725 - 150725

Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2019

Ημ. 3^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2025

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το PERFRINGENS AGAR (T.S.C.) χρησιμοποιείται για την απομόνωση ταυτοποίηση και απαρίθμηση του *Clostridium perfringens* στα τρόφιμα.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η θρεπτική βάση παρέχει τις βέλτιστες συνθήκες για την ανάπτυξη του *C. perfringens*. Η τρυπτόζη και η πεπτόνη σόγιας παρέχουν άζωτο, βιταμίνες, μέταλλα και αμινοξέα απαραίτητα για την ανάπτυξη. Το εκχύλισμα ζύμης είναι πηγή βιταμινών, ιδιαίτερα της ομάδας Β που είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των βακτηρίων. Το Ferric ammonium citrate είναι δείκτης της παραγωγής H₂S (μαύρες αποικίες). Το βακτηριολογικό άγαρ είναι ο παράγοντας στερεοποίησης.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Tryptone	15.0
Soy Peptone	5.0
Yeast Extract	5.0
Beef Extract	5.0
Ferric ammonium citrate	1.0
Sodium metabisulphite	1.0
Agar	14.0

Εμφάνιση: Άγαρ κίτρινο – μπεζ διαυγές.

Τελικό pH 7,6 ± 0.2 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το PERFRINGENS AGAR BASE είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου. Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό). Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες. Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε. Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης. Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης. Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι. Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους **2 – 12 °C** μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους. Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των **6 °C** δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγετε την υπερβολική θέρμανση. Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για **5 – 7 μέρες** αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ ή με σακουλάκι. Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους **17 - 25 °C** για **3 ημέρες** ή στους **27 - 40 °C** για **24 ώρες**, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Βγάλτε το φιαλίδιο από το ψυγείο 1 ώρα πριν τη χρήση του, ώστε να πάρει τη θερμοκρασία δωματίου (20 – 25 °C). Ανεβάστε τη θερμοκρασία στο δοχείο βρασμού (υδατόλουτρο), μέχρι το νερό να αρχίσει να βράζει ήπια. Τοποθετήστε το φιαλίδιο στο βραστό νερό για 20 έως 25 λεπτά, αφού πρώτα αποσφραγίσετε και χαλαρώσετε λίγο το καπάκι. Βγάλτε το φιαλίδιο από το βραστήρα και αφήστε το για 30 - 40 λεπτά σε δροσερό μέρος (20 – 25 °C). Έχει υπολογιστεί ότι η θερμοκρασία του υλικού θα κατέβει στους 54 – 50 °C. Ρίξτε 5 ml Egg yolk emulsion & 40mg D- Cycloserine και αναμίξτε με αργές κινήσεις. Μοιράστε το υλικό στα τρυβλία. Τρυβλία 90mm, 20ml. Τρυβλία 60mm, 10ml. Κάντε ποσοτική αραιώση του δείγματος 1/10 με το κατάλληλο αραιωτικό (MRD). Ενοφθαλμίστε 0,1ml στο τρυβλίο και απλώστε σε όλη την επιφάνεια. Επώστε στους 35 – 37 °C για 24 - 48 ώρες σε αναερόβιες συνθήκες. Για τα πλήρη στοιχεία αναφερθείτε στις κατάλληλες αναφορές και τα τυποποιημένα πρωτόκολλα μεθόδου ISO. Επώστε τα τρυβλία στους 35 - 37 °C για 24 ώρες σε αναερόβιες συνθήκες.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Μετά την επώαση, μετρήστε όλες τις μαύρες ή γκρι αποικίες ως πιθανό *Clostridium perfringens*. Δεδομένου ότι το μαύρο χρώμα των αποικιών εξασθενεί γρήγορα και τελικά εξαφανίζεται, τα τρυβλία πρέπει να μετρηθούν εντός 30 λεπτών μετά την ολοκλήρωση της αναερόβιας επώασης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η περαιτέρω επιβεβαίωση πρέπει να πραγματοποιηθεί με επιπλέον ταυτοποίηση π.χ.: τυποποιημένη μείωση νιτρικών αλάτων (μέθοδος πρωτοκόλλου), τη ζύμωση λακτόζης, τη ρευστοποίηση της πηκτικής και την απουσία κινητικότητας. Η Cycloserine μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη εξασθενημένων κλωστρηιδίων με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται φτωχά (μικρές αποικίες) και να μην μαυρίζουν.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	ΑΤCC	Χρώμα αποικίας
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	Μαύρο με θολερή άλλο
<i>Escherichia coli</i>	25922	Αναστέλλεται



Clostridium perfringens

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα. Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα. Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

PERFRINGENS AGAR BASE (ISO 7937)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Φιαλίδιο 100ml	060725	10 τεμάχια	2 – 25 °C	365 μέρες
Φιαλίδιο 200ml	150725	6 τεμάχια	2 – 25 °C	365 μέρες

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ86/1348/2004.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Shahidi, S.A. and Furguson, A.R. (1971). Appl. Microbiol. 21. 500-506.
Harmon, S.M., Kauttar, D.A. and Peeler, J.T. (1971). Appl. Microbiol. 22. 688-692.
Hauschild, A. H. W. and Hilsheimer R. (1973). Appl. Microbiol. 27. 78-82.
Hauschild A.H.W. and Hilsheimer, R. (1973). Appl. Microbiol. 27. 521-526.
Hauschild, A.H.W. *et al* (1977). Can. J. Microbiol. 23. 884-892.
Labbe, R. G. and Harmon, S.M. (1992). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed 623-635. American Public Health Association, Washington, D.C.
Rhodehamel, E.J. and Harmon, S.M. (1995). Bacteriological Analytical Manual 8th ed. 16.01-16.06 AOAC International, Gaithersburg, MD.
Andrews, W. (1995) Official methods of analysis AOAC International 16th ed. 1-119. AOAC International, Arlington, VA.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: bioprep1@otenet.gr www.bioprepare.gr



TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **PERFRINGENS AGAR BASE (ISO 7937)** 
 REFERENCE: **060725 - 150725**

Date 1st Edition:
 7th 2019
 Date 3rd Revision:
 6th 2025

DESCRIPTION

PERFRINGENS AGAR (T.S.C.) is used for the isolation, identification, and enumeration of *Clostridium perfringens* in food.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The nutrient base provides optimal conditions for the growth of *C. perfringens*. Tryptone and soy peptone supply nitrogen, vitamins, minerals, and amino acids necessary for growth. Yeast extract is a source of vitamins, especially the B-group, which are essential for bacterial growth. Ferric ammonium citrate acts as an indicator for H₂S production (black colonies). Bacteriological agar is the solidifying agent.

COMPOSITION	g/litre
Tryptone	15.0
Soy Peptone	5.0
Yeast Extract	5.0
Beef Extract	5.0
Ferric ammonium citrate	1.0
Sodium metabisulphite	1.0
Agar	14.0

Appearance: Yellow-beige clear agar.

Final pH 7,6 ± 0.2 at 25 °C.

PRECAUTIONS

PERFRINGENS AGAR BASE is in vitro diagnostic laboratory material and should only be handled by trained laboratory personnel. This material contains peptones and extracts of animal origin. Certificates regarding the source and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. Therefore, these materials should be treated as potentially infectious and handled using standard safety precautions (avoid ingestion and inhalation). Always handle plates wearing gloves and within a Class II laminar flow cabinet to prevent contamination, especially by saprophytic fungi. Do not use plates that show signs of microbial contamination. The material should not be used after the expiration date. In case of skin contact, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be disposed of according to the appropriate hygiene regulations for infectious materials.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

The petri dishes should be stored at **2 – 12 °C** in their packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **6 °C** creates excess moisture in the material, posing a risk of contamination. Freezing, even momentarily, destroys the material. Also, avoid excessive heating. The petri dishes can be used up until the expiration date indicated on the label. If the airtight packaging of the petri dish is accidentally opened, it can be stored in the refrigerator for **5 – 7 days** after sealing with parafilm or a bag. For transport, stability studies have shown that the petri dishes can remain at **17 – 25 °C** for **3 days** or at **27 – 40 °C** for **24 hours** without affecting the product's performance.

USAGE INSTRUCTIONS

Take the vial out of the refrigerator 1 hour before use to bring it to room temperature (20 – 25 °C). Raise the temperature in the boiling container (water bath) until the water begins to boil gently. Place the vial in the boiling water for 20 to 25 minutes; after slightly loosening the cap. Remove the vial from the boiling water and let it sit in a cool place (20 – 25 °C) for 30 – 40 minutes. It is calculated that the material temperature will decrease to 54 – 50 °C. Add 5 ml of Egg yolk emulsion and 40 mg D-Cycloserine and mix with slow movements. Distribute the material onto the petri dishes. For 90mm petri dishes, use 20 ml. For 60mm petri dishes, use 10 ml. Perform a 1/10 dilution of the sample with the appropriate diluent (MRD). Inoculate 0.1 ml into the petri dish and spread it over the entire surface. Incubate at 35 – 37 °C for 24 – 48 hours under anaerobic conditions. For full details, refer to the relevant references and standardized method protocols from ISO. Incubate the petri dishes at 35 – 37 °C for 24 hours under anaerobic conditions.

READING AND INTERPRETATION

After incubation, count all the black or gray colonies as potential *Clostridium perfringens*. Since the black color of the colonies fades quickly and eventually disappears, the petri dishes should be counted within 30 minutes after completing the anaerobic incubation.

METHOD LIMITATIONS

Further confirmation should be carried out with additional identification methods, e.g., standardized nitrate reduction (protocol method), lactose fermentation, gelatin liquefaction, and absence of motility. Cycloserine may affect the growth of weakened *Clostridium strains*, resulting in poor development (small colonies) and no blackening.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Microorganism	ATCC	Colony Color
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	Black with cloudy halo
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibited



Clostridium perfringens

DISPOSAL OF MATERIALS IN WASTE

Materials that show no growth can be considered non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials that show colony growth must be disposed of in accordance with guidelines for infectious or potentially infectious waste. The laboratory is responsible for the proper management of infectious waste according to its nature and level of risk and must manage and dispose of (or assign the management and disposal of) it according to the applicable regulations.

SPECIFICATIONS

PERFRINGENS AGAR BASE (ISO 7937)

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
Vial 100ml	060725	10 pieces	2 – 25 °C	365 days
Vial 200ml	150725	6 pieces	2 – 25 °C	365 days

Bioprep company is certified according to the standards: EN ISO 9001:2015 / ELOT EN ISO 13485:2016, DY86/1348/2004.

REFERENCES

- Shahidi, S.A. and Furguson, A.R. (1971). Appl. Microbiol. 21. 500-506.
 Harmon, S.M., Kauttar, D.A. and Peeler, J.T. (1971). Appl. Microbiol. 22. 688-692.
 Hauschild, A. H. W. and Hilsheimer R. (1973). Appl. Microbiol. 27. 78-82.
 Hauschild A.H.W. and Hilsheimer, R. (1973). Appl. Microbiol. 27. 521-526.
 Hauschild, A.H.W. *et al* (1977). Can. J. Microbiol. 23. 884-892.
 Labbe, R. G. and Harmon, S.M. (1992). Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd ed 623-635. American Public Health Association, Washington, D.C.
 Rhodehamel, E.J. and Harmon, S.M. (1995). Bacteriological Analytical Manual 8th ed. 16.01-16.06 AOAC International, Gaithersburg, MD.
 Andrews, W. (1995) Official methods of analysis AOAC International 16th ed. 1-119. AOAC International, Arlington, VA.

IN VITRO MANUFACTURER'S DATA



G. PAPANIKOLAOU & CO

PRODUCTION LABORATORIES OF CULTURE MEDIA

Potamou 5, Industrial Area Keratea, Attica

P.O. Box: 4893, Postal Code: 9001 - Tel: +30 2299066113. Fax: +30 2299066112

E-mail: bioprep1@otenet.gr

www.bioprep.gr