

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: PERFRINGENS AGAR (T.S.C.) (ISO 7937)****ΚΩΔΙΚΟΣ: 010724**Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2019

Ημ. 4^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

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 ολικό αυγό χρησιμοποιείται για τον έλεγχο παραγωγής λεκιθινάσης. Η κυκλοσερίνη αναστέλλει την ανεπιθύμητη βακτηριακή χλωρίδα. 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
Egg yolk emulsion	50ml
D- Cycloserine	400mg

Εμφάνιση: Άγαρ κίτρινο – μπεζ διαυγές.

Τελικό pH 7,6 ± 0.2 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το PERFRINGENS AGAR (T.S.C.) 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 συνηθών 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 **2 °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. 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

- Κάντε ποσοτική αραιώση του δείγματος 1/10 με το κατάλληλο αραιωτικό (MRD).
- Ενοφθαλμίστε 0,1ml στο τρυβλίο και απλώστε σε όλη την επιφάνεια.
- Επωάστε 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.

Επωάστε 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*.

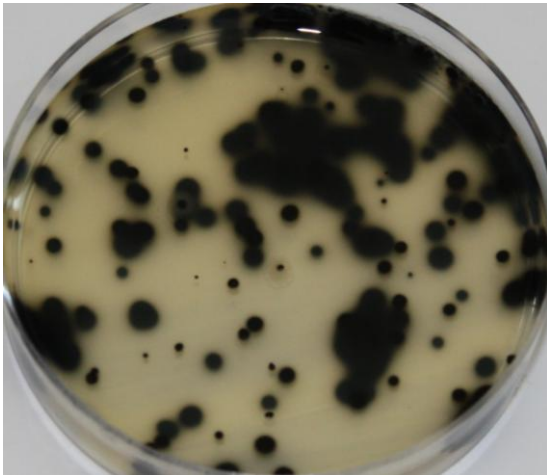
Δεδομένου ότι το μαύρο χρώμα των αποικιών εξασθενεί γρήγορα και τελικά εξαφανίζεται, τα τρυβλία πρέπει να μετρηθούν εντός 30 λεπτών μετά την ολοκλήρωση της αναερόβιας επώασης.

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 πηκτής και την απουσία κινητικότητας. Η Cycloserine μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη εξασθενημένων κλωστρηριδίων 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 (T.S.C.) (ISO 7937)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010724	10 τεμάχια	2 – 12 °C	60 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

Bioprepare
microbiology



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 (T.S.C.) (ISO 7937)**
 REFERENCE: **010724**



Date 1st Edition:
7th 2009
 Date 4th Revision:
6th 2024

DESCRIPTION

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

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 essential amino acids. Yeast extract is a source of vitamins, particularly B-complex vitamins, which are crucial for bacterial growth. Ferric ammonium citrate serves as an indicator for H₂S production, leading to the formation of black colonies. Whole egg is included for the lecithinase production test. Cycloserine inhibits unwanted bacterial flora. Bacteriological agar acts as 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
Egg yolk emulsion	50ml
D- Cycloserine	400mg

Appearance: Agar yellow - beige not clear.

Final pH 7.6 ± 0.2 in 25 °C.

PRECAUTIONS

PERFRINGENS AGAR (T.S.C.) is an in-vitro laboratory diagnostic material and should only be handled by qualified people in the laboratory. This material contains peptones and extracts of animal origin. The certificates regarding the origin and health status of the animals do not fully guarantee the absence of transmissible pathogens. For this reason, it is recommended that these materials be treated as potentially infectious, with the usual safety precautions (avoiding ingestion or inhalation). Plates should always be handled with gloves and in Laminar flow Class II, to avoid contamination mainly by saprophytic fungi. If the plate is cracked or the bag has a hole, do not use it. Do not use petri dishes if there are signs of microbial contamination. The thickness of the agar must be 4 - 5 mm and the material without cracks, dryness or other signs of deterioration. After the expiry date the material is unfit for use. In case of contact with the skin, wash immediately with plenty of water and soap. Positive samples must be destroyed according to the hygienic rules prescribed for the management of contaminated samples.

STORAGE AND TRANSPORTS CONDITIONS

The plates should be stored at **2–12°C** in their packaging until use. Prolonged storage below **2°C** may cause excessive moisture buildup, increasing the risk of contamination. Freezing, even momentarily, destroys the medium. Excessive heating should also be avoided. The plates can be used until the expiration date indicated on the label. Stability studies have shown that the plates can remain at **17–25°C** for up to **3 days** or at **27–40°C** for **24 hours** without affecting product performance.

INSTRUCTIONS FOR USE

Perform a 1/10 dilution of the sample using the appropriate diluent (MRD).

Inoculate 0.1 mL onto the plate and spread evenly across the surface.

Incubate at 35–37°C for 24–48 hours under anaerobic conditions.

For complete details, refer to relevant references and standardized ISO method protocols.

READING AND INTERPRETATION

After incubation, count all black or gray colonies as presumptive *Clostridium perfringens*. Since the black coloration fades quickly and eventually disappears, plates should be examined within 30 minutes after completing anaerobic incubation.

LIMITATIONS OF THE METHOD

Further confirmation should be performed through additional identification tests, such as: Standardized nitrate reduction tests (protocol method), Lactose fermentation, Gelatin liquefaction, Absence of motility

Note: Cycloserine may inhibit the growth of weakened *Clostridium* strains, leading to poor colony development (small colonies) and lack of black pigmentation.

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Microorganism	Growth	Colonies
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Good	Black coloured colonies with opaque halo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inhibited	-



Clostridium perfringens

WASTE DISPOSAL OF WASTE

Materials that show no growth can be considered as non-hazardous waste and disposed of accordingly. Materials that show colony growth must be disposed of according to the 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 handle and dispose of it (or assign its management and disposal) in compliance with the applicable regulations.

SPECIFICATIONS

PERFRINGENS AGAR (T.S.C.) (ISO 7937)

PRODUCT	CODE	PACKAGE	STORAGE	SELF LIFE
Petri dish 90mm	010741	10 items	2 – 12 °C	60 days

Produce in Greece by BIOPREPARE Company in accordance with regulations of the European committee 98/79/EK.

Bioprep company has been certified according to standards EN ISO 9001:2015 / EAOT EN ISO 13485:2016 DY8d/1348/2004.

BIBLIOGRAPHY

- 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, Gaithersberg, 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