

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Το REINFORCED CLOSTRIDIAL AGAR χρησιμοποιείται για την απαρίθμηση αναερόβιων βακτηρίων με τη μέθοδο διήθησης με φίλτρο ή με ενσωμάτωση σε τρυβλίο και δεν προορίζεται για χρήση στη διάγνωση ασθενειών ή άλλων καταστάσεων στον άνθρωπο.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η θρεπτική βάση παρέχει τις βέλτιστες συνθήκες για την ανάπτυξη του *C. perfringens*. Το εκχύλισμα κρέατος και η πεπτόνη 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 Sodium chloride παρέχει τα απαραίτητα μέταλλα και διατηρεί την οσμωτική ισορροπία και την ισορροπία των ηλεκτρολυτών. Η L-Cysteine προάγει την ανάπτυξη των αναερόβιων βακτηρίων. Το βακτηριολογικό άγαρ είναι ο παράγοντας στερεοποίησης.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Yeast Extract	3.0
Beef Extract	10.0
Peptone	10.0
Glucose	5.0
Soluble Starch	1.0
Sodium Chloride	5.0
Sodium Acetate	3.0
L-Cysteine Hydrochloride	0.5
Agar	12.0

Εμφάνιση: Άγαρ ανοιχτό κίτρινο, ημιδιαφανές.

Τελικό pH $6,8 \pm 0,2$ στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το REINFORCED CLOSTRIDIAL AGAR 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 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. Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλη 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 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

1. Διηθείστε 100ml από το δείγμα μέσω μεμβράνης μεγέθους πόρων 0,45 μm επαρκή για τη συγκράτηση σπορίων Κλωστρίδιων.
2. Τοποθετήστε τη μεμβράνη στην επιφάνεια του RC agar με προσοχή ώστε να μη δημιουργηθούν φυσαλίδες αέρα μεταξύ μεμβράνης και υλικού.
3. Ο χρόνος μεταξύ της τοποθέτησης της μεμβράνης στο RC agar και της έναρξης της επώασης δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τη 1 ώρα.
4. Επώαστε τα τρυβλία με τα φίλτρα, αναερόβια στους 30 ± 1 °C για (48 - 72) ώρες ανεστραμμένα για να αποφύγετε συμπύκνωση υδρατμών στο καπάκι του τρυβλίου.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Μετά την επώαση, μετρήστε όλες αποικίες ως πιθανό *Clostridium perfringens*.

Μετρήστε όσο το δυνατόν νωρίτερα καθώς η παρατεταμένη επώαση μπορεί να οδηγήσει σε διακοπή του μέσου λόγω παραγωγής αερίου.

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.

ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	Approx. Inoculum (CFU)	Αναμενόμενα αποτελέσματα
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	≥500 cfu	≥ 70% ανάκτηση



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

REINFORCED CLOSTRIDIAL AGAR

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010864	10 τεμάχια	2 – 12 °C	5 μήνες

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

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Miller, N.J., Garrett, O.W. and Prickett, P.S. (1939). Anaerobic technique – a modified deep agar shake. Food Res. 4: 447-451. Ingram, M. and Barnes, E.M. (1956). A simple modification of the deep shake tube for counting anaerobic bacteria. Lab. Pract. 5: 145.

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.bioprep1.gr



TECHNICAL DATA SHEET

PRODUCT: **REINFORCED CLOSTRIDIAL AGAR**



REFERENCE: **010864**

Date 1st Edition:

7th 2022

Date 3rd Revision:

6th 2025

DESCRIPTION

REINFORCED CLOSTRIDIAL AGAR is used for the enumeration of anaerobic bacteria by membrane filtration or pour plate method and is not intended for use in the diagnosis of diseases or other conditions in humans.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The nutrient base provides optimal conditions for the growth of *Clostridium perfringens*. Beef extract and peptone supply nitrogen, vitamins, minerals, and amino acids essential for bacterial growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly B-complex vitamins required for bacterial metabolism. Sodium chloride provides essential electrolytes and helps maintain osmotic balance. L-Cysteine enhances the growth of anaerobic bacteria. Bacteriological agar acts as the solidifying agent.

COMPOSITION	g/litre
Yeast Extract	3.0
Beef Extract	10.0
Peptone	10.0
Glucose	5.0
Soluble Starch	1.0
Sodium Chloride	5.0
Sodium Acetate	3.0
L-Cysteine Hydrochloride	0.5
Agar	12.0

Appearance: Light yellow, semi-transparent agar

Final pH 6,8 ± 0.2 at 25 °C.

PRECAUTIONS

REINFORCED CLOSTRIDIAL AGAR 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

Plates must be stored at **2–12 °C** in their original packaging until use. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** may cause excessive moisture within the medium, increasing the risk of contamination. Freezing, even briefly, damages the medium. Excessive heating should also be avoided. Plates may be used until the expiration date stated on the label. If a plate's airtight packaging is accidentally opened, it can be stored in the refrigerator for **5–7 days** if properly resealed using Parafilm or a sealable bag. According to our stability studies, plates can be transported at **17–25 °C** for up to **3 days** or at **27–40 °C** for up to **48 hours** without compromising product performance.

INSTRUCTIONS FOR USE

- Filter 100 ml of the sample through a 0.45 µm pore size membrane, suitable for retaining *Clostridium* spores.
- Carefully place the membrane on the surface of the RC agar, ensuring no air bubbles form between the membrane and the medium.
- The time between placing the membrane on the agar and starting incubation should not exceed 1 hour.
- Incubate the plates with membranes anaerobically at 30 ± 1 °C for 48–72 hours, inverted to avoid condensation on the lid.

RESULTS AND INTERPRETATION

After incubation, count all colonies as presumptive *Clostridium perfringens*.

Read results as soon as possible, as prolonged incubation may lead to breakdown of the medium due to gas production.

METHOD LIMITATIONS

Further confirmation must be performed using additional identification methods, e.g., nitrate reduction (standard protocol method), lactose fermentation, gelatin liquefaction, and lack of motility.

ΤΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Microorganism	Approx. Inoculum (CFU)	Expected Result
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	≥500 cfu	≥ 70% recovery



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

REINFORCED CLOSTRIDIAL AGAR

ITEM	CODE	PACKAGE	STORAGE	SHELF LIFE
9 cm Plate	010864	10 units	2 – 12 °C	5 months

Bioprep are certified according to the following standards: EN ISO 9001:2015 / ELOT EN ISO 13485:2016 / Ministerial Decision ΔY86/1348/2004

REFERENCES

Miller, N.J., Garrett, O.W. and Prickett, P.S. (1939). Anaerobic technique – a modified deep agar shake. Food Res. 4: 447-451. Ingram, M. and Barnes, E.M. (1956). A simple modification of the deep shake tube for counting anaerobic bacteria. Lab. Pract. 5: 145.

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