

**ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ****ΠΡΟΪΟΝ: Tryptose sulfite cycloserine agar (ISO 14189)****ΚΩΔΙΚΟΣ: 050378**Ημ. 1^{ης} Έκδοσης:

7ος 2019

Ημ. 2^{ης} Αναθεώρησης:

6ος 2024

ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ

Το Tryptose sulfite cycloserine agar (TSC agar), χρησιμοποιείται για την απομόνωση ταυτοποίηση και απαρίθμηση του *Clostridium perfringens* στο νερό με τη τεχνική διήθησης σε μεμβράνη σύμφωνα με το ISO 14189.

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. Η κυκλοσερίνη αναστέλλει την ανεπιθύμητη βακτηριακή χλωρίδα.

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
D- Cycloserine	400mg

Εμφάνιση: Άγαρ κίτρινο – μπεζ διαυγές.

Τελικό pH 7,6 ± 0.2 στους 25 °C.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Το TSC 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 υγιεινολογική κατάσταση των ζώων δεν εγγυώνται 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. 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

1. Διηθείστε 100ml από το δείγμα μέσω μεμβράνης μεγέθους πόρων 0,45 μm επαρκή για τη συγκράτηση σπορίων Κλωστριδίων.
2. Τοποθετήστε τη μεμβράνη στην επιφάνεια του TSC agar με προσοχή ώστε να μη δημιουργηθούν φυσαλίδες αέρα μεταξύ μεμβράνης και υλικού.
3. Ο χρόνος μεταξύ της τοποθέτησης της μεμβράνης στο TSC agar και της έναρξης της επώασης δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τη 1 ώρα.
4. Επώαστε τα τρυβλία με τα φίλτρα, αναερόβια στους 44 ± 1 °C για (21 ± 3) ώρες ανεστραμμένα για να αποφύγετε συμπίκνωση υδρατμών στο καπάκι του τρυβλίου.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Μετά την επώαση, μετρήστε όλες τις μαύρες ή γκρι αποικίες ως πιθανό *Clostridium perfringens*.

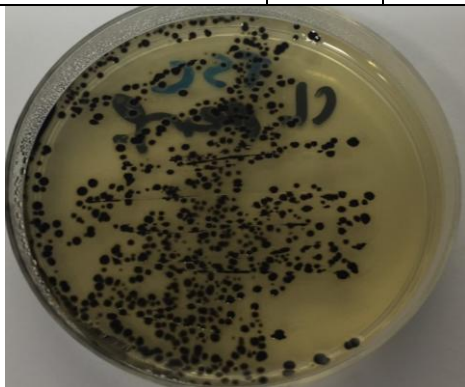
Δεδομένου ότι το μαύρο χρώμα των αποικιών εξασθενεί γρήγορα και τελικά εξαφανίζεται, τα τρυβλία πρέπει να μετρηθούν εντός 30 λεπτών μετά την ολοκλήρωση της αναερόβιας επώασης.

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 Κλωστριδίων 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
<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

Tryptose sulfite cycloserine agar (TSC agar), (ISO 14189)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 6cm	050378	10 τεμάχια	2 – 12 °C	40 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: **Tryptose sulfite cycloserine agar (ISO 14189)**
REFERENCE: **050378**



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

DESCRIPTION

Tryptose sulfite cycloserine agar (TSC agar) is used to isolate identification and enumeration of *Clostridium perfringens* in water by the membrane filtration technique according to ISO 14189.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The nutrient base provides the optimal conditions for the growth of *C. perfringens*. Tryptose and soy peptone provide nitrogen, vitamins, minerals and amino acids essential for growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly group B, which is essential for the growth of bacteria. Ferric ammonium citrate is an indicator of H₂S production (black colonies). Bacterial agar is the solidifying agent. Cycloserine inhibits unwanted bacterial flora.

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
D- Cycloserine	400mg

Appearance: Agar yellow - beige clear.

Final pH 7.6 ± 0.2 in 25 °C.

PRECAUTIONS

TSC agar 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. Positive samples must be destroyed in accordance with the hygiene rules laid down for the handling of infectious specimens.

STORAGE AND TRANSPORTS CONDITIONS

The Petri dishes should be stored at **2 – 12 °C** inside their packaging until they are used. Prolonged storage at temperatures below **2 °C** creates sufficient moisture inside the material, posing a risk of contamination. Freezing, even momentarily, destroys the material. Excessive heating should also be avoided. The dishes can be used until the expiration date indicated on the label. For transportation, stability studies have shown that the dishes can remain at **17 – 25 °C** for 3 days or at **27 – 40 °C** for **24 hours** without affecting the performance of the product.

INSTRUCTIONS FOR USE

- Filter 100 ml of the sample through a membrane with a pore size of 0.45 µm, sufficient to retain *Clostridium* spores.
- Place the membrane carefully on the surface of the TSC agar to avoid air bubbles between the membrane and the material.
- The time between placing the membrane on the TSC agar and the start of incubation should not exceed 1 hour.
- Incubate the dishes with the filters anaerobically at 44 ± 1 °C for (21 ± 3) hours, inverted, to avoid condensation of water vapor on the lid of the Petri dish.

READING AND INTERPRETATION

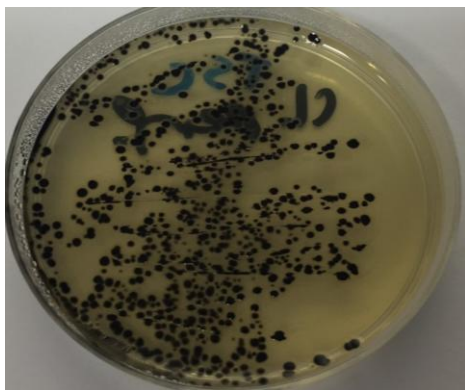
After incubation, count all the black or gray colonies as potential *Clostridium perfringens*. Since the black color of the colonies fades quickly and eventually disappears, the Petri dishes should be counted within 30 minutes after completing the anaerobic incubation.

LIMITATIONS OF THE METHOD

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

GENERAL CHARACTERISTICS OF QUALITY CONTROL

Microorganism	Growth	Colonies
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Good	Black
<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

Tryptose sulfite cycloserine agar (TSC agar), (ISO 14189)

PRODUCT	CODE	PACKAGE	KEEPING	SELF LIFE
Petri dish 60mm	050378	10 items	2 – 12 °C	40 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 Fergusson, 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