

Clostridium perfringens Agar Base

Basal medium for detection of *C. perfringens* from clinical specimens and other materials according to ISO 7937 and ISO 14189.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Enzymatic Digest of Casein	15.0
Enzymatic Digest of Soya	5.0
Yeast Extract	5.0
Sodium Disulfite Anhydrous	1.0
Iron(III) Ammonium Citrate	1.0
Agar	15.0
Final pH 7.6 ± 0.2 at 25°C	

DESCRIPTION

Clostridium perfringens Agar Base is a basal medium used either on its own or with selective agents for the presumptive identification of *Clostridium perfringens* from clinical specimens, food, water and environmental samples.

D-Cycloserine can be added to this culture medium to comply with the specifications given by ISO 7937, ISO 14189 and APHA.

When supplemented with polymyxin B and kanamycin, the medium conforms to the formulation developed by Shahidi and Ferguson.

If used without any supplement added, this medium is known as Iron Sulfite Agar and recommended by ISO 15213 for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions.

PRINCIPLE

Enzymatic digest of casein and enzymatic digest of soya provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a rich source of vitamins of B-group. Ferric ammonium citrate and sodium metabisulfite are H₂S indicators. Agar is the solidifying agent. Clostridia reduce sulfite to sulfide which reacts with iron to form a black iron sulfide precipitate.

One of the following selective supplements can be added to the medium:

- *Clostridium perfringens* (T.S.C.) Supplement (ref. 81011), containing D-Cycloserine as inhibitor of accompanying flora;
- Kanamycin/Polymyxin B Supplement (ref. 81031);
- D-Cycloserine 4-MUP Supplement (ref. 81098), which contains in addition to D-Cycloserine, 4-Methyl-umbelliferyl-phosphate (MUP) to detect acid phosphatase by its fluorescence under UV light.

PREPARATION

Suspend 42.0 g of powder in 1 liter of distilled or deionized water (*). Heat to boiling until completely dissolved. Autoclave at 121°C for 15 minutes. Cool to 45-50°C. Aseptically, add rehydrated content of 2 vials (10 ml) of:

- *Clostridium perfringens* (T.S.C.) Supplement for TSC (Tryptose Sulfite Cycloserine Agar) Agar or
- Kanamycin/Polymyxin B Supplement for SFP (Shahidi-Ferguson) Agar or
- D-Cycloserine 4-MUP Supplement for TSC Agar with MUP.

Mix well and pour in Petri dishes.

(*) If desired, 100 ml Egg Yolk Emulsion (ref. 80219) can also be added after sterilization to detect lecithinase activity (not indicated in ISO 7937 or ISO 14189 either). Take this into account for calculating the final volume of 1.01 liters. For either TSC Agar or SFP Agar used as an overlay, the egg yolk emulsion is omitted. Its inclusion does not improve the lecithinase reaction and diminishes the visibility of the colonies.

TECHNIQUE

Inoculate the medium by streak/spread plating, pour-plate method or using the membrane filtration technique. Incubate plates anaerobically at 37 ± 1°C (food examination) or 44 ± 1°C (water analysis) for 18-24 hours.

INTERPRETATION OF RESULTS

Count all black colonies on the plates. For confirming presumptive colonies of *Clostridium perfringens* the following tests are recommended: reduction nitrate to nitrite (+), motility test (-), gelatine liquefaction (+).

On TSC Agar with MUP, fluorescence is detected with an UV lamp: light blue fluorescing black colonies indicate *C. perfringens*.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed and use it before the expiry date on the label or until signs of deterioration or contamination are evident. Store prepared plates at 2-8°C away from light.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



REFERENCES

1. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 14189: 2011. Water quality – Enumeration of *Clostridium perfringens* – Method using membrane filtration.
3. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Clostridium perfringens* - Colony-count technique.
4. ISO 15213:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions.
5. Rapporti ISTISAN 07/5 ISSA 005B Rev.00. Determinazione di *Clostridium perfringens* (solo su acque provenienti o contaminate da acque superficiali).
6. Downes F.P., and K. Ito (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4thed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. Haushild, A.H.W., and A. Hilsheimer (1974) Evaluation and modifications of media for enumeration of *C. perfringens*. App. Microbiol. 27:78.
8. Harmon, S.M., O.A. Kautler and J.T. Peeler (1971) Improved medium for enumeration of *Clostridium perfringens*. App. Microbiol. 22:688.
9. Shahidi, SA. and AR Ferguson (1971) App. Microbiol. 21:500-606.



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Clostridium perfringens Agar Base

PRESENTATION

Dehydrated medium

STORAGE

10-30°C

PACKAGING

Ref.	Content	Packaging
610207	500 g	500 g of powder in plastic bottle
620207	100 g	100 g of powder in plastic bottle

pH OF THE MEDIUM

7.6 ± 0.2

USE

Clostridium perfringens Agar Base is a medium used with supplements for the selective isolation and differentiation of *C. perfringens* from clinical specimens, food, water and environmental samples according to ISO 7937, ISO 14189 and APHA

TECHNIQUE

Refer to technical sheet of the product

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Dehydrated medium

Appearance: free-flowing, homogeneous

Colour: beige

Prepared medium

Appearance: clear (opaque if egg yolk emulsion has been added)

Colour: amber

SHELF LIFE











4 years

QUALITY CONTROL

- Control of general characteristics, label and print
- Microbiological control
Complete medium: TSC Agar
Inoculum for productivity: 50-100 CFU
Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU
Incubation Conditions: 20 ± 2 h at 37 ± 1°C ^(a) and/or 18-24 at 44 ± 1°C ^(b), in anaerobiosis

Microorganism	WDCM	Growth	Colony Appearance
<i>Clostridium perfringens</i> ^{a,b}	WDCM 00007	Good	Black colonies
<i>Escherichia coli</i> ^a	WDCM 00012	Inhibited	---
<i>Bacillus subtilis</i> ^b	WDCM 00003	Inhibited	---

TABLE OF SYMBOLS

 LOT	Batch code	 IVD	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device		Manufacturer		Use by		Fragile, handle with care
 REF	Catalogue number		Temperature limitation		Contains sufficient for <n> tests		Caution, consult instructions for use		Do not reuse



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY
Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



Clostridium perfringens Agar Base

Terreno base per la ricerca di *C. perfringens* da campioni clinici ed altri materiali secondo ISO 7937 and ISO 14189.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Enzimatico di Caseina	15.0
Digerito Enzimatico di Soia	5.0
Estratto di Lievito	5.0
Sodio Metabisolfito Anidro	1.0
Ferro(III) Ammonio Citrato	1.0
Agar	15.0
pH Finale 7.6 ± 0.2	

DESCRIZIONE

Clostridium perfringens Agar Base è un terreno base utilizzato tal quale o con supplementi per l'identificazione presuntiva di *Clostridium perfringens* da campioni clinici, alimenti, acqua e campioni ambientali.

La D-Cicloserina può essere aggiunta a questo terreno per soddisfare le specifiche fornite da ISO 7937, ISO 14189 ed APHA.

Quando viene supplementato con polimixina B e kanamicina il terreno è conforme alla formulazione sviluppata da Shahidi e Ferguson.

Se utilizzato senza l'aggiunta di supplementi, questo terreno è conosciuto come Iron Sulfite Agar e raccomandato da ISO 15213 per il conteggio dei batteri solfito riduttori che crescono sotto condizioni anaerobiche.

PRINCIPIO

Digerito enzimatico di caseina e digerito enzimatico di soia forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo-B. Sodio metabisolfito ed ammonio citrato ferrico sono indicatori per la produzione di H₂S. L'agar è l'agente solidificante. I clostridi riducono i solfati a solfuri i quali reagiscono con il ferro per formare un precipitato nero di solfuro di ferro.

Il terreno può essere arricchito con uno dei seguenti supplementi selettivi:

- *Clostridium perfringens* (T.S.C.) Supplement (ref. 81011), contenente D-Cicloserina come inibitore della flora contaminante;
- Kanamycin/Polymyxin B Supplement (ref. 81031);
- D-Cycloserine 4-MUP Supplement (ref. 81098), che contiene oltre alla D-Cicloserina, 4-Metil-umbelliferil-fosfato (MUP) per la determinazione della fosfatasi acida grazie alla fluorescenza alla luce UV.

PREPARAZIONE

Sospendere 42.0 g di polvere in 1 litro di acqua deionizzata o distillata (*). Portare ad ebollizione ed agitare fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti. Lasciar raffreddare fino a 45-50°C. Asetticamente, ricostituire 2 fiale (10 ml) di uno dei supplementi sotto elencati ed aggiungerne il contenuto al terreno in preparazione.

- *Clostridium perfringens* (T.S.C.) Supplement per preparare SC (Tryptose Sulfite Cycloserine Agar) Agar
- Kanamycin/Polymyxin B Supplement per SFP (Shahidi-Ferguson) Agar
- D-Cycloserine 4-MUP Supplement per TSC Agar con MUP.

(* Se desiderato, dopo la sterilizzazione si possono aggiungere 100 ml di Egg Yolk Emulsion (ref. 80219) per la determinazione dell'attività della lecitinasi (non indicato in ISO 7937 nè ISO 14189). Da tenere in considerazione per il calcolo del volume finale di 1.01 litri. Sia per TSC Agar ed SFP Agar utilizzati come "overlay", l'emulsione d'uovo viene omessa in quanto non migliora la reazione della lecitinasi e diminuisce la visibilità delle colonie.

TECNICA

Inoculare il campione per striscio/spatolamento, inclusione o con la tecnica della filtrazione su membrana. Incubare a 37 ± 1°C (esame alimenti) o 44 ± 1°C (analisi acque) per 18-24 ore in atmosfera anaerobica.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Contare tutte le colonie nere sulle piastre. Per la conferma della colonie presuntive di *Clostridium perfringens* si raccomandano i seguenti test: riduzione dei nitrati a nitriti (*), test di motilità (-), liquefazione della gelatina (+).

Su TSC Agar con MUP, la fluorescenza viene determinata con una lampada UV: le colonie nere con fluorescenza azzurra devono essere considerate *C. perfringens*.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E TRASPORTO

Il prodotto è molto igroscopico, conservare la polvere a 10-30°C, in un ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento o contaminazione. Conservare le piastre pronte a 2-8°C al riparo dalla luce.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanze nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente, perciò non è classificato come pericoloso; per il suo impiego si consiglia comunque di consultare la scheda di sicurezza. Il prodotto è destinato ad uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da parte di personale qualificato.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento del prodotto deve essere effettuato secondo le vigenti regolamentazioni nazionali e locali.



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. EN ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 14189: 2011. Water quality – Enumeration of *Clostridium perfringens* – Method using membrane filtration.
3. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Clostridium perfringens* - Colony-count technique.
4. ISO 15213:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions.
5. Rapporti ISTISAN 07/5 ISSA 005B Rev.00. Determinazione di *Clostridium perfringens* (solo su acque provenienti o contaminate da acque superficiali).
6. Downes F.P., and K. Ito (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4thed. American Public Health Association, Washington, D.C.
7. Haushild, A.H.W., and A. Hilsheimer (1974) Evaluation and modifications of media for enumeration of *C. perfringens*. App. Microbiol. 27:78.
8. Harmon, S.M., O.A. Kautler and J.T. Peeler (1971) Improved medium for enumeration of *Clostridium perfringens*. App. Microbiol. 22:688.
9. Shahidi, SA. and AR Ferguson (1971) App. Microbiol. 21:500-606.



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Clostridium perfringens Agar Base

PRESENTAZIONE

Terreno in polvere

CONSERVAZIONE

10-30°C

CONFEZIONAMENTO

Ref.	Contenuto	Confezionamento
610207	500 g	500 g di polvere in contenitore di plastica
620207	100 g	100 g di polvere in contenitore di plastica

pH DEL TERRENO

7.6 ± 0.2

IMPIEGO

Clostridium perfringens Agar Base è un terreno utilizzato con supplementi per la ricerca selettiva e la differenziazione di *C. perfringens* da campioni clinici, alimenti, acqua e campioni ambientali, secondo ISO 7937, ISO 14189 ed APHA.

TECNICA

Fare riferimento alla scheda tecnica del prodotto

ASPETTO DEL TERRENO

Terreno in polvere

Aspetto: fine, asciutto, omogeneo, privo di materiale estraneo

Colore: beige

Terreno pronto

Aspetto: chiaro (opaco se è stata aggiunta emulsione di tuorlo d'uovo)

Colore: ambra

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE











4 anni

CONTROLLO DI QUALITÀ

- Controllo caratteristiche generali, etichettatura e stampa
- Controllo microbiologico
Terreno completo: TSC Agar
Dimensione dell'inoculo per produttività: 50-100 UFC
Dimensione dell'inoculo per selettività : 10⁴-10⁶ UFC
Condizioni di incubazione: 20 ± 2 ore a 37 ± 1°C (°) e/o 18-24 at 44 ± 1°C (°), in anaerobiosi

Microrganismo		Crescita	Aspetto delle colonie
<i>Clostridium perfringens</i> ^{a,b}	WDCM 00007	Buona	Colonie nere
<i>Escherichia coli</i> ^a	WDCM 00012	Inibita	---
<i>Bacillus subtilis</i> ^b	WDCM 00003	Inibita	

TABELLA DEI SIMBOLI

 LOT	Numero di lotto	 IVD	Per uso diagnostico <i>in vitro</i>		Fabbricante		Data di scadenza		Fragile, maneggiare con cura
 REF	Numero di catalogo		Limiti di temperatura		Contenuto sufficiente per <n> test		Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@lioilchem.net

