

**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 εκχυλίσμα ζύμης είναι πηγή βιταμινών, ιδιαίτερα της ομάδας Β που είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των βακτηρίων. Το Ferric ammonium citrate είναι δείκτης της παραγωγής H<sub>2</sub>S (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 υγιεινομική 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 – 8 °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 η 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**

1. Βγάλτε το φιαλίδιο από το ψυγείο 1 ώρα πριν τη χρήση του, ώστε να πάρει τη θερμοκρασία δωματίου (20 – 25 °C).

2. Ανεβάστε τη θερμοκρασία στο δοχείο βρασμού (υδατόλουτρο), μέχρι το νερό να αρχίσει να βράζει ήπια.

3. Τοποθετήστε το φιαλίδιο στο βραστό νερό για 20 έως 25 λεπτά, αφού πρώτα αποσφραγίσετε και χαλαρώσετε λίγο το καπάκι.

4. 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.

5. Ρίξτε 5 ml Egg yolk emulsion & 40mg D- Cycloserine και αναμίξτε με αργές κινήσεις.

6. Μοιράστε το υλικό στα τρυβλία. Τρυβλία 90mm, 20ml. Τρυβλία 60mm, 10ml.

7. Κάντε ποσοτική αραιώση του δείγματος 1/10 με το κατάλληλο αραιωτικό (MRD).

8. Ενοφθαλμίστε 0,1ml στο τρυβλίο και απλώστε σε όλη την επιφάνεια.

9. Επώαστε 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.

Επώαστε 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 Κλωστηριδίων με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται φτωχά (μικρές αποικίες) και να μην μαυρίζουν.

## ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	ATCC	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 δυνητικά 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 Bioprepate έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/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](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprepate.gr](http://www.bioprepate.gr)

