



SPS Agar

Selective medium for detecting and enumerating
Clostridium perfringens in food and clinical specimens.

DESCRIPTION

SPS Agar is a medium used for the selective isolation and enumeration of *Clostridium perfringens* in food and clinical specimens.

TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Tryptone	15.0
Yeast Extract	10.0
Ferric Citrate	0.5
Sodium Sulfite	0.5
Sodium Thioglycollate	0.1
Polysorbate 80	0.05
Polymixin B Sulfate	0.01
Sulfadiazine	0.12
Agar	15.0
Final pH 7.0 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Tryptone supplies carbon, nitrogen, vitamins and minerals. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-Group. Ferric citrate and sodium sulfite are H₂S indicators. Sodium thioglycollate is a reducing agent. Polysorbate 80 is a surfactant and emulsifier. Polymixin B sulfate and sulfadiazine inhibit bacteria other than Clostridia. Agar is the solidifying agent. *Clostridium perfringens* reduces sulfite to sulfide which react with iron of ferric citrate to form a black precipitate of iron sulfide turning the colonies black.

PREPARATION

- Dehydrated medium Suspend 41.3 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
- Medium in bottles Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

TEST PROCEDURE

Prepare serial dilutions of the sample to be examined and inoculate onto SPS Agar using the pour plate technique. Alternatively, inoculate the plates by streaking directly the sample onto the agar surface. Tubes are inoculated by stabbing the inoculum into the agar using a sterile loop or needle. Incubate anaerobically at 37°C for 24-48 h.

INTERPRETING RESULTS

At the end of incubation, examine for black colonies. Most clostridia are sulfite reducers and since the medium is not extremely selective it is advisable to confirm *C. perfringens* by standard biochemical tests.

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing homogeneous, beige.
Prepared medium: slightly opalescent, light to medium amber.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles, tubes and prepared plates at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.
 Medium in bottle: 2 years.
 Medium in tube: 1 year.
 Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

The medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.
 Inoculum for productivity: 50-100 CFU.
 Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU.
 Inoculum for specificity: 10³-10⁴ CFU.
 Incubation conditions: anaerobically at 35 ± 2°C for 24-48 h.

QC Table.

Microorganism		Growth	Specification
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC® 13124	Good	Black colonies
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inhibited	---
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 25933	Inhibited	---
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC® 11437	None to fair	Black colonies
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Fair to good	White colonies

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 is intended for *in vitro* diagnostic use and 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.

BIBLIOGRAPHY

- Downes, F.P. and Ito (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed., APHA. Washington.
- F.D.A. (1998) Bacteriological Analytical Manual 8th ed. Rev. A., AOAC International. Gaithersburg. MD.
- Angelotti, Hall, Foster, Lewis (1962) Quantisation of *Clostridium perfringens* in foods. Appl. Microbiol., 10:193.
- Mossel, D.A.A. (1959) Enumeration of sulfite-reducing bacteria occurring in foods. J. Sci. Food Agric. 19:662.

PRESENTATION		Contents	Ref.
SPS Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	11196
SPS Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates	11196*
SPS Agar	Tubes	10 x 10 ml tubes	33065
SPS Agar	Tubes	20 x 10 ml tubes	31065
SPS Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles	442490
SPS Agar	Bottles	6 x 150 ml bottles	401930
SPS Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610148
SPS Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620148

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 Instruction 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 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





SPS Agar

Terreno selettivo per la ricerca ed il conteggio di *Clostridium perfringens* negli alimenti e campioni clinici.

DESCRIZIONE

SPS Agar è un terreno utilizzato per l'isolamento selettivo ed il conteggio di *Clostridium perfringens* negli alimenti e campioni clinici.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Triptone	15.0
Estratto di Lievito	10.0
Citrato Ferrico	0.5
Sodio Solfito	0.5
Sodio Tioglicollato	0.1
Plisorbato 80	0.05
Polimixina B	0.01
Sulfadiazina	0.12
Agar	15.0
pH Finale 7.0 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

Il triptone fornisce azoto, carbonio, vitamine e minerali. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. Citrato ferrico e sodio solfito sono gli indicatori di H₂S. Il sodio tioglicollato è un agente riducente. Il polisorbato 80 è un tensioattivo emulsionante. Polimixina B solfato e sulfadiazina inibiscono i batteri eccetto i Clostridi. L'agar è l'agente solidificante. *Clostridium perfringens* riduce il solfito a solfuro il quale reagisce con il ferro del citrato ferrico formando un precipitato nero di solfuro di ferro che rende le colonie nere.

PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 41.3 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
<u>Terreno in flaconi</u>	Sciogliere il contenuto di flacone in bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

PROCEDURA DEL TEST

Preparare diluizioni seriali del campione da esaminare ed inoculare su SPS Agar per inclusione. In alternativa, inoculare le piastre strisciando direttamente il campione sulla superficie dell'agar. Le provette vengono inoculate per infissione. Incubare in condizioni anaerobiche a 37°C per 24-48 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Alla fine del periodo di incubazione, osservare la crescita di colonie nere. La maggior parte dei clostridi sono solfito riduttori e siccome questo terreno non è estremamente selettivo è consigliabile avvalersi di test biochimici standard per la conferma di *C. perfringens*.

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.
Terreno preparato: ambra, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi, le provette e le piastre pronte a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.
 Terreno in flaconi: 2 anni.
 Terreno in provette: 1 anno.
 Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il terreno viene inoculato con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.
 Inoculo per produttività: 50-100 UFC.
 Inoculo per produttività: 10⁴-10⁶ UFC.
 Inoculo per produttività: 10³-10⁴ UFC.
 Condizioni di incubazione: ambiente anaerobio a 35 ± 2°C per 24-48 ore.

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC® 13124	Buona	Colonie nere
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inibita	---
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC® 25933	Inibita	---
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC® 11437	Da scarsa a discreta	Colonie nere
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Da discreta a buona	Colonie bianche

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.








BIBLIOGRAFIA

- Downes, E.P. and Ito (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed., APHA. Washington.
- F.D.A. (1998) Bacteriological Analytical Manual 8th ed. Rev. A., AOAC International. Gaithersburg. MD.
- Angelotti, Hall, Foster, Lewis (1962) Quantisation of *Clostridium perfringens* in foods. Appl. Microbiol., 10:193.
- Mossel, D.A.A. (1959) Enumeration of sulfite-reducing bacteria occurring in foods. J. Sci. Food Agric. 19:662.

PRESENTAZIONE

		Contenuto	Ref.
SPS Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	11196
SPS Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	100 piastre	11196*
SPS Agar	Provette	Provette 10 x 10 ml	33065
SPS Agar	Provette	Provette 20 x 10 ml	31065
SPS Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml	442490
SPS Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 150 ml	401930
SPS Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610148
SPS Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620148

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD Dispositivo Diagnostico Medico <i>In Vitro</i>	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 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 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net

