

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.

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

For professional use only. Operators must be trained and have certain experience in the laboratory methods. Please read the instructions carefully before using this product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.

Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.

DISPOSAL OF WASTE

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



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

REFERENCES

1. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 14189: 2013. 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. Rapporti ISTISAN 07/5 ISSA 005B Rev.00. Determinazione di *Clostridium perfringens* (solo su acque provenienti o contaminate da acque superficiali).
5. Downes F.P., and K. Ito (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4thed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Haushild, A.H.W., and A. Hilsheimer (1974) Evaluation and modifications of media for enumeration of *C. perfringens*. App. Microbiol. 27:78.
7. Harmon, S.M., O.A. Kautler and J.T. Peeler (1971) Improved medium for enumeration of *Clostridium perfringens*. App. Microbiol. 22:688.
8. Shahidi, SA. and AR Ferguson (1971) App. Microbiol. 21:500-606.



PRODUCT SPECIFICATIONS

NAME

Clostridium perfringens Agar Base

STORAGE

10-30°C

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

SHELF LIFE

4 years

QUALITY CONTROL

Appearance of Dehydrated Medium: Free-flowing, homogeneous, beige

Appearance of Prepared Medium: Clear (opaque if egg yolk emulsion has been added), amber

Expected Cultural Response:

Complete medium: TSC Agar

Incubation conditions: 20 ± 2 h/ 37 ± 1°C ^(a) and/or 21 ± 3/ 44 ± 1°C ^(b), in anaerobiosis

Inoculum for productivity: 50-100 CFU

Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU










Microorganism	WDCM	Growth	Specification
<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	---

PACKAGING

610207 Dehydrated medium 500 g of powder in plastic bottle

620207 Dehydrated medium 100 g of powder in plastic bottle

TABLE OF SYMBOLS

 LOT	Batch code	 Do not reuse	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
 REF	Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Consult instructions for use	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

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.

PRINCIPIO

Digerito enzimatico di caseina e digerito enzimatico di soia forniscono amminoacidi, 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

Solo per uso professionale. Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza nei metodi di laboratorio. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare questo prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni riportate in questo documento.

Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle modalità di manipolazione sicure.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

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



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 14189: 2013. 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. Rapporti ISTISAN 07/5 ISSA 005B Rev.00. Determinazione di *Clostridium perfringens* (solo su acque provenienti o contaminate da acque superficiali).
5. Downes F.P., and K. Ito (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4thed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Haushild, A.H.W., and A. Hilsheimer (1974) Evaluation and modifications of media for enumeration of *C. perfringens*. App. Microbiol. 27:78.
7. Harmon, S.M., O.A. Kautler and J.T. Peeler (1971) Improved medium for enumeration of *Clostridium perfringens*. App. Microbiol. 22:688.
8. Shahidi, SA. and AR Ferguson (1971) App. Microbiol. 21:500-606.



SPECIFICHE DI PRODOTTO

DENOMINAZIONE

Clostridium perfringens Agar Base

CONSERVAZIONE

10-30°C

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

VALIDITÀ DALLA DATA DI PRODUZIONE

4 anni

CONTROLLO DI QUALITÀ

Aspetto del Terreno Disidratato: Granulometria fine, omogeneo, beige

Aspetto del Terreno Preparato: chiaro (opaco se è stata aggiunta emulsione di tuorlo d'uovo), ambra

Risultati Attesi dei Test Colturali:

Terreno completo: TSC Agar

Condizioni di incubazione: 20 ± 2 h/ 37 ± 1°C ^(a) e/o 21 ± 3/ 44 ± 1°C ^(b), in anaerobiosi

Dimensione dell'inoculo per produttività: 50-100 UFC

Dimensione dell'inoculo per selettività: 10⁴-10⁶ UFC










Microrganismo		Crescita	Specifiche
<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	

CONFEZIONAMENTO

610207 Terreno disidratato 500 g di polvere in contenitore di plastica

620207 Terreno disidratato 100 g di polvere in contenitore di plastica

TABELLA DEI SIMBOLI

 LOT	Numero di lotto	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Fragile, maneggiare con cura	 Data di scadenza
 REF	Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Consultare le istruzioni per l'uso	



LIOFILCHEM® S.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) - ITALY

Tel +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com