

## Агар для CLOSTRIDIUM PERFRIGENS

Основа среды для обнаружения *C. perfringens* в клинических образцах и других материалах в соответствии с ISO 7937 и ISO 14189.

РУ от 11 ноября 2013 года № РЗН 2013/994

### Описание

**Агар для CLOSTRIDIUM PERFRIGENS** - основа среды, которая может использоваться без или с селективными агентами для предварительной идентификации *Clostridium perfringens* в клинических образцах, продуктах питания, воде и пробах окружающей среды.

D-циclosерин может быть добавлен в питательную среду в соответствии с рекомендациями ISO 7937, ISO 14189 и АРНА. При добавлении полимиксина В и канамицина среда соответствует формуле, разработанной Шахиди и Фергюсоном.

Продукт доступен в следующих конфигурациях:

Продукт	Кат. №	Категория	Упаковка	Срок хранения
<i>Агар для CLOSTRIDIUM PERFRIGENS</i>	610207	Сухая среда в пластиковой банке	500 г	4 года
	620207		100 г	

### Типичная формула (г/л)

Ферментативный перевар казеина	15,0
Ферментативный перевар сои	5,0
Дрожжевой экстракт 5.0	5,0
Ди-сульфит натрия безводный	1,0
Цитрат аммония железа (III)	1,0
Агар	15,0

Конечная величина рН  $7,6 \pm 0,2$  при 25°C

### Принцип метода

Ферментативный перевары казеина и сои - источники аминокислот, азота, углерода, витаминов и минералов, необходимые для роста микроорганизмов. Дрожжевой экстракт - богатый источник витаминов группы В. Цитрат аммония железа и метабисульфит натрия - индикаторы  $H_2S$ . Агар - отвердитель. Клостридии восстанавливают сульфит до сульфида, который реагирует с железом, образуя черный осадок сульфида железа.

В среду могут быть добавлены одна из следующих селективных добавок:

- Добавка для *Clostridium perfringens* (TSC) (Арт. 81011), содержит D-циclosерин в качестве ингибитора сопутствующей микрофлоры;
- Добавка канамицин/полмиксин В (Арт. 81031);
- Добавка D-циclosерин 4-MUP (Арт. 81098), кроме D-циclosерина содержит 4-метил-умбеллиферил-фосфат (MUP) для обнаружения кислой фосфатазы по ее флуоресценции в УФ-свете.

### Приготовление

Растворить 42,0 г порошка в 1 л дистиллированной или деионизированной воды (\*). Нагреть до кипения до полного растворения. Автоклавировать при 121°C в течение 15 минут. Остудить до 45-50°C. Асептически внести 2 флакона добавки, растворенных в 10 мл:

- **Добавка для *Clostridium perfringens* (TSC)** для **Агара TSC** (Агар триптозо-сульфитный с циклосерином) или
- **Добавка канамицин/полмиксин В** для **Агара SFP** (Шахиди-Фергюсона) или
- **Добавка D-циclosерин 4-MUP** для **TSC-агара с MUP**.

Хорошо перемешать и разлить по чашкам Петри.

(\*) При желании после стерилизации также можно добавить 100 мл *Эмульсии яичного желтка* (Арт. 80219) для определения лецитиназной активности (не указано в ISO 7937 и в ISO 14189). Примите во внимание, что это в расчете итогового объема 1,01 литра. Для *Агара TSC* или *Агара SFP*, используемого в качестве верхнего слоя, эмульсия яичного желтка не используется. Его включение не улучшает реакцию на лецитиназу и ухудшает видимость колоний.

### Процедура тестирования

Инокулируйте среду методом штриха по поверхности чашки, методом заливки или мембранной фильтрации.

Инкубируйте чашки в анаэробных условиях при  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (анализ пищевых продуктов) или  $44 \pm 1^\circ\text{C}$  (анализ воды) в течение 18-24 часов.

### Интерпретация результатов

Подсчитайте все черные колонии на чашках. Для подтверждения предполагаемых колоний *Clostridium perfringens* рекомендуется проведение следующих тестов: восстановление нитрата до нитрита (+), тест на подвижность (-), разжижение желатина (+).

На *Agare TSC с MUP* флуоресценцию обнаруживают с помощью УФ-лампы: светло-голубые флуоресцирующие черные колонии указывают на *C. perfringens*.

### Хранение

Порошок очень гигроскопичен. Его рекомендуется хранить в плотно закрытой оригинальной упаковке при  $10-30^\circ\text{C}$  в сухом помещении. Использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке, или до появления признаков порчи или загрязнения. Готовые чашки хранить при  $2-8^\circ\text{C}$  в защищенном от света месте.

### Предупреждения и меры предосторожности

**Только для профессионального использования.** Персонал должен быть обучен и иметь определенный опыт работы с лабораторными методами. Пожалуйста, внимательно прочитайте инструкцию перед использованием этого продукта. Достоверность результатов анализа не может быть гарантирована при наличии каких-либо отклонений от инструкций данного документа. Обратитесь к паспорту безопасности (SDS) для получения информации об опасностях и методах безопасного обращения.

### Утилизация отходов

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими национальными и местными правилами.

### Контроль качества

#### Внешний вид среды

Сухая среда: сыпучая, однородная, бежевого цвета.

Готовая среда: прозрачная (непрозрачная, если была добавлена эмульсия яичного желтка), янтарного цвета.

#### **Ожидаемый культуральный ответ:**

Полная среда: *Agar TSC*

Условия инкубации: в течение  $20 \pm 2$  ч при  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  (a) и/или при  $44 \pm 1^\circ\text{C}$  (b), в анаэробных условиях.

Инокулят на продуктивность: 50-100 КОЕ

Инокулят на селективность:  $10^4$ - $10^6$  КОЕ.

Микроорганизм		Рост	Характеристика
<i>Clostridium perfringens</i> <sup>a,b</sup>	WDCM 00007	Хороший	Черные колонии
<i>Escherichia coli</i> <sup>a</sup>	WDCM 00012	Ингибирован	----
<i>Bacillus subtilis</i> <sup>b</sup>	WDCM 00003	Ингибирован	----

### Библиография

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. 4th ed. 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.