

## ÁGAR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS (ISO) CLOSTRIDIUM PERFRINGENS AGAR BASE (9188)

### Uso Previsto

**Ágar Clostridium Perfringens** é utilizado com suplementos seletivos e diferenciais para a recuperação de *Clostridium perfringens*.

### Sumário e Explicação do Produto

**Ágar Clostridium Perfringens** é um meio base nutriente utilizado na preparação do Ágar SFP e Ágar TSC. Dependendo da fórmula, suplementos são adicionados para aumentar a seletividade do meio. Ágar Shahidi-Ferguson Perfringens (SFP) é baseado na fórmula de Shahidi e Ferguson e incorpora os suplementos Sulfato de Polimixina B e Canamicina.<sup>1</sup> Ágar Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC) é desenvolvido com base no Ágar SFP, com a adição de Cicloserina.<sup>2</sup> Se desejado, a Emulsão de Gema de Ovo pode ser adicionada em ambas as fórmulas.

### Princípios do Procedimento

A Digestão Enzimática de Caseína, Digestão Enzimática de Farelo de Soja e Extrato de Levedura fornecem nitrogênio, vitaminas e aminoácidos no Ágar Clostridium Perfringens. Metabissulfito de Sódio aumenta a tolerância do *Clostridium perfringens* ao oxigênio, agindo como um removedor de oxigênio. Citrato Férrico Amoniacal é utilizado para diferenciar *Clostridium perfringens* redutores de sulfito, permitindo a visualização de sulfureto de hidrogênio, que produz colônias pretas no meio. Ágar é o agente solidificante. Os suplementos antimicrobianos fornecem um alto grau de seletividade ao meio. A adição de Emulsão de Gema de Ovo pode produzir a atividade da lecitinase, causando o aparecimento de uma zona opaca ao redor da colônia.

### Fórmula / Litro

Digestão Enzimática de Caseína.....	15 g
Digestão Enzimática de Farelo de Soja.....	5 g
Extrato de Levedura.....	5 g
Metabissulfito de Sódio.....	1 g
Citrato Férrico Amoniacal .....	1 g
Ágar .....	14 g

pH Final: 7,6 ± 0,2 a 25°C

A fórmula pode ser ajustada e/ou suplementada conforme necessário para atender as especificações de desempenho.

### Suplemento, # 7982 (se desejado)

Emulsão de Gema de Ovo, 100 mL  
Solução 50%

### Precauções

1. Somente para o uso em laboratório.
2. PREJUDICIAL. Pode ser prejudicial se ingerido ou inalado. Irritante para os olhos, sistema respiratório e pele.

### Modo de Preparo para SFP e TSC

1. Suspensa 41 g do meio em 900 mL de água purificada. Misture completamente.
2. Aqueça, agitando frequentemente e ferva por 1 minuto para dissolver completamente o meio.
3. Autoclave a 121°C por 15 minutos. Resfrie a 45–50°C.
4. Adicione 100 mL da Emulsão de Gema de Ovo, 50% (# 7982) e o suplemento antimicrobiano desejado:  
**Ágar TSC:** Adicione 10 mL da solução de Cicloserina 4% estéril.  
**Ágar SFP:** Adicione 10 mL da solução estéril contendo 3 mg de Sulfato de Polimixina B e 12 mg de Canamicina.

### Ágar de Sobrecamada

1. Suspensa 41 g do meio em 1 L de água purificada.
2. Aqueça, agitando frequentemente e ferva por 1 minuto para dissolver completamente o meio.
3. Autoclave a 121°C por 15 minutos. Resfrie a 45–50°C.
4. O Ágar de Sobrecamada não é suplementado com a Emulsão de Gema de Ovo. O Ágar de Sobrecamada é mantido a 45–50°C até a sua utilização e deve ser adicionado logo após a inoculação.

### **Especificações de Controle de Qualidade**

**Aparência Desidratado:** O pó é homogêneo, fluxo livre e bege claro a médio.

**Aparência Preparado:** O meio preparado é bege claro a médio e com um ligeiro precipitado.

**Resposta Esperada de Cultivo:** Resposta de cultivo no Ágar Clostridium Perfringens preparado como Ágar TSC e Ágar SFP, suplementado como necessário. Após a inoculação da camada base, o meio foi coberto com o ágar de sobrecamada. Espécies de *Clostridium* foram incubadas sob condições anaeróbicas e todas as outras espécies foram incubadas sob condições aeróbicas a 35°C por 18–24 horas.

#### **Ágar TSC**

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resultados Esperados
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC® 10543	10–300	Oprimido a inibido, colônias pretas quando presentes
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC® 13124	10–300	Colônias pretas
<i>Clostridium novyi</i> ATCC® 17861	10–300	Oprimido a inibido
<i>Clostridium tetani</i> ATCC® 19406	10–300	Oprimido a inibido
<i>Bacillus cereus</i> ATCC® 11778	300–1000	Oprimido a inibido
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	300–1000	Oprimido a inibido
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	300–1000	Oprimido a inibido

#### **Ágar SFP**

Micro-organismo	Inóculo Aproximado (UFC)	Resultados Esperados
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC® 10543	10–300	Colônias pretas
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC® 13124	10–300	Colônias pretas
<i>Clostridium novyi</i> ATCC® 17861	10–300	Oprimido a inibido
<i>Clostridium tetani</i> ATCC® 19406	10–300	Oprimido a inibido
<i>Bacillus cereus</i> ATCC® 11778	300–1000	Oprimido a inibido
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	300–1000	Oprimido a inibido
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	300–1000	Oprimido a inibido

### **Procedimento do Teste**

Para uma discussão completa sobre o isolamento e identificação de *C. perfringens* e outras bactérias anaeróbicas, refira-se aos procedimentos específicos nas referências apropriadas.<sup>3,4</sup>

### **Resultados**

*Clostridium perfringens* produz colônias pretas no Ágar TSC Agar e Ágar SFP. Quando a Emulsão de Gema de Ovo é adicionada, as colônias podem apresentar um halo opaco ao redor das colônias devido à atividade da lecitinase. Todas as colônias pretas devem ser confirmadas.<sup>3,4,5</sup> As culturas que não foram cobertas com o ágar, dificilmente irão produzir colônias pretas.

### **Armazenamento**

Armazene o frasco contendo o meio desidratado devidamente fechado entre 2–30°C. Uma vez aberto e fechado novamente, coloque o frasco em um ambiente de baixa umidade e na mesma temperatura de armazenamento. Proteja contra a umidade e luz mantendo o frasco firmemente fechado.

### **Validade**

Refira-se à data de validade no frasco. O meio desidratado deve ser descartado se não fluir livremente ou se houver mudança na coloração original. A validade se aplica ao meio em sua embalagem intacta quando armazenado como indicado.

### **Limitações do Procedimento**

1. Ambas colônias pretas lecitinase-positiva e lecitinase-negativa devem ser consideradas presuntivas para *Clostridium perfringens* no Ágar TSC ou no Ágar SFP. Testes confirmatórios são necessários.
2. Anaeróbios facultativos positivos para gema de ovo podem crescer no Ágar SFP, produzindo placas completamente opacas, cobrindo a reação do *Clostridium perfringens* com a gema de ovo.

### **Embalagem**

<b>Ágar Clostridium Perfringens</b>	<b>N° Código</b>	<b>9188A</b>	<b>500 g</b>
		<b>9188B</b>	<b>2 kg</b>
		<b>9188C</b>	<b>10 kg</b>
<b>Emulsão de Gema de Ovo</b>		<b>7982</b>	<b>100 mL</b>

### **Referências**

1. **Shahidi, S. A., and A. R. Ferguson.** 1971. Appl. Microbiol. **21**: 500-506.
2. **Harmon, S. M., and D. A. Kauttar, J. T. Peeler.** 1971. Appl. Microbiol. **22**:688-692.
3. **Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.).** 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3<sup>rd</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
4. **International Organization for Standardization (ISO):** 1978. Meat and meat products. - Enumeration of *Clostridium perfringens* - Working Draft ISO/TC 34/SC 6.
5. **[www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalmanualBAM/default.htm](http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalmanualBAM/default.htm).**

### **Informação Técnica**

Contate a Neogen do Brasil para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone 19.3935-3727.

Contate a Acumedia Manufacturers, Inc. para Serviços Técnicos ou questões envolvendo a preparação ou desempenho do meio de cultura desidratado no telefone +1 (517)372-9200 ou fax +1 (517)372-2006.