

TSC AGAR BASE D-CYCLOSERINE ANTIMICROBIC SUPPLEMENT D-CYCLOSERINE 4-MUP SUPPLEMENT

Terreno di base in polvere e supplementi
selettivi per l'isolamento di *Clostridium perfringens* in accordo a ISO 7937 ed ISO 15213

FORMULE TIPICHE

TSC Agar Base (g/L)

Idrolisato pancreatico di caseina	15
Peptone di soia	5
Estratto di lievito	5
Ferro (III) ammonio citrato	1
Sodio metabisolfito (Na ₂ S ₂ O ₅) anidro	1
Agar	15

D-Cycloserine Antimicrobial Supplement (x fiala)

D-Cicloserina 200 mg

D-Cycloserine 4-MUP Supplement (x fiala)

D-Cicloserina 200 mg

4-metilumbelliferilfosfato (4-MUP) 50 mg

PREPARAZIONE

TSC Agar: sospendere 21 g in 500 mL di acqua distillata fredda, portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C. Ricostituire con le precauzioni dell'asepsi il contenuto di una fiala di D-Cycloserine Antimicrobial Supplement (cat. n. 4240002) con 5 mL di acqua distillata sterile ed addizionarlo al terreno di base. Mescolare con cura e distribuire in piastre Petri. pH finale 7.6 ± 0.2

TSC 4-MUP Agar: sospendere 21 g in 500 mL di acqua distillata fredda, portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 45-50°C. Ricostituire con le precauzioni dell'asepsi il contenuto di una fiala di D-Cycloserine 4-MUP Supplement (cat. n. 4240049) con 5 mL di acqua distillata sterile ed addizionarlo al terreno di base. Mescolare con cura e distribuire in piastre Petri. pH finale 7.6 ± 0.2

DESCRIZIONE

Clostridium perfringens provoca disordini gastroenterici caratterizzati da dolori addominali e diarrea senza, di norma, febbre e vomito. L'infezione è di solito provocata dall'ingestione di carne ed alimenti a base di carne (sughi) contaminati da feci o da altro materiale contenente *C. perfringens* e non opportunamente cotti. La tossinfezione alimentare può essere diagnosticata con colture quantitative in anaerobiosi su alimenti e feci. La dose minima infettante è di 10⁵ cellule/g di alimento. Il terreno completo con cicloserina, preparato senza emulsione di rosso d'uovo, corrisponde al terreno TSC Agar descritto da ISO 7937.

Il terreno di base, senza aggiunta di supplementi, corrisponde al terreno "Iron Sulphite Agar" descritto da ISO 15213.

IMPIEGO

Per il conteggio presuntivo di *C. perfringens* ISO 7937 consiglia la seguente tecnica:

- Preparare il campione e le sue diluizioni decimali in accordo alla norma ISO 6887 impiegando il terreno Maximum Recovery Diluent (401691)
- Trasferire 1 mL di sospensione madre ed 1 mL delle diluizioni decimali al centro delle piastre Petri.
- Introdurre nelle piastre 15-20 mL di TSC Agar e mescolare bene il terreno con l'inoculo
- Quando il terreno è solidificato aggiungere uno strato di superficie di 10 mL.
- Lasciar solidificare ed incubare in giara per anaerobiosi a 37°C per 20 ore. Incubazioni più prolungate possono provocare un esteso annerimento del terreno e difficoltà di lettura.

Per il conteggio presuntivo di *C. perfringens* scegliere le piastre contenenti da 15 a 150 colonie nere

I tests di conferma comprendono:

- riduzione dei nitrati a nitriti (+)
- mobilità (-)
- liquefazione della gelatina (+)

Impiegando il terreno TSC 4-MUP Agar MSDA suggerisce la seguente tecnica :

- Trasferire 0.1 mL di sospensione madre e 0.1 mL delle diluizioni decimali sulla superficie di piastre ben asciutte di TSC 4-MUP Agar.
- Incubare in giara per anaerobiosi a 44 °C per 22 +/- 2 ore
- Contare come *C. perfringens* le colonie fluorescenti osservate sotto lampada di Wood con emissione a circa 360 nm.
- Confermare con il test della catalasi (-) e con il CAMP test inverso (+)

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo della produttività, con supplemento selettivo:

C.perfringens ATCC 13124: crescita, colonie nere (fluorescenti su TSC 4-MUP Agar)

Controllo della selettività con supplemento selettivo:

E.coli ATCC 25922 : inibito

Controllo della specificità

Senza supplemento selettivo: *E.coli* ATCC 25922 : crescita con colonie incolori

Incubazione a 37 °C per 24 h, anaerobiosi

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30 °C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.). Conservare il terreno di base, senza aggiunti di supplementi, per un massimo di 2 settimane a 2-8 °C. Conservare le piastre preparate in laboratorio per un massimo di 24 ore a 2-8 °C

Supplementi selettivi: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8 °C.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere: Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$. Come per tutti i terreni in polvere la sua manipolazione deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie. Non ingerire.

D- Cycloserine Antimicrobial Supplement e D- Cycloserine 4-MUP Antimicrobial Supplement: i preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$.

I prodotti qui descritti devono essere usati solo in laboratorio, da operatori addestrati e con conoscenze delle tecniche microbiologiche di base. Operare con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

BIBLIOGRAFIA

- ISO 7937 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* -- Colony-count technique
- ISO 15213 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions
- Haushild, A.H.W. & Hilaheimer, A. (1974). App. Microbiol. 27, 78
- Harmon, S.M., Kautter, O.A. & Peeler, J.T. (1971). App. Microbiol., 22,688
- Manuel suisse des denrées alimentaires (MSDA). Chapitre 56, Microbiologie. Juillet 2000.
- Shehidi, SA. & Ferguson, AR. (1971). App. Microbiol., 21, 500-606

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4021582 TSC Agar Base,

500 g (11.3 L)

Supplementi selettivi

4240002 D-Cycloserine Antimicrobial Supplement,

10 fiale ciascuna per 500 mL

4240049 D-Cycloserine 4 MUP Antimicrobial Supplement,

10 fiale ciascuna per 500 mL