

TSC AGAR BASE

Terreno di base pronto all'uso in flaconi
per l'isolamento di *Clostridium perfringens* in accordo a ISO 7937 e ISO 15213

FORMULA TIPICA

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
pH finale 7.6 ± 0.2	

PREPARAZIONE

In un bagnomaria termoregolato a 100°C introdurre i flaconi e riscaldare fino ad ebollizione ed a dissoluzione completa. Raffreddare a 45-50°C ed aggiungere il supplemento richiesto.

TSC Agar: 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 aggiungerlo al terreno di base (1mL/100 mL terreno base) . Mescolare con cura e distribuire in piastre Petri.

TSC 4-MUP Agar: 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 aggiungerlo al terreno di base (1mL/100 mL terreno base) . Mescolare con cura e distribuire in piastre Petri.

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 test 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

Conservare a 2-8 °C nella confezione originale, al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$. Il prodotto qui descritto deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre o le provette dopo l'uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- ISO 7937 Microbiology – General guidance for 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. & Hilzheimer, 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

CONFEZIONE

5121582	TSC Agar Base	6 flaconi da 100 mL
5121583	TSC Agar Base	6 flaconi da 200 mL