



TSC (TRIPTOSIO SOLFITO CICLOSERINA) AGAR ISO 7937: per la determinazione ed il conteggio di *Clostridium perfringens*

REF	CONFEZIONE
20509	20 piastre 90 mm
20666	10 piastre 60 mm
20171	10 provette vetro 20 ml (agar base) *
20665	10 provette vetro 22 ml (agar base) *
20743	1 flacone 200 ml (agar base) *
20809	4 flaconi 100 ml (agar base) *
6646	Disidratato 500 gr (agar base) *

PRINCIPIO

Il digerito enzimatico di proteine, il peptone di soia e l'estratto di lievito forniscono i nutrienti essenziali per la crescita. Il ferrico ammonio citrato e il sodio bisolfito sono indicatori della produzione di H₂S. La Cicloserina inibisce la flora contaminante.

FORMULA

Sono riportati i costituenti del terreno (espressi in grammi o millilitri) su litro di acqua deionizzata

Digerito enzimatico di proteine	15.00
Digerito enzimatico di soia	5.00
Estratto di lievito	5.00
Disodio bisolfito anidro	1.00
Ferrico ammonio citrato	1.00
Agar	15.00
D-Cicloserina	0.40*

pH finale : 7,6 +/- 0,2 a 25 °C

PREPARAZIONE

Sospendere 42 gr in un litro di acqua deionizzata, miscelare bene e bollire fino a completa dissoluzione, sterilizzare a 121°C per 15 minuti, raffreddare a 48°C e aggiungere 2 fiale di CLOSTRIDIUM PERFRINGENS SUPPLEMENT (D- CICLOSERINA) (codice 6303), se desiderato aggiungere 50 ml /l di EGG YOLK EMULSION (codice 6304), miscelare bene e dispensare in contenitori sterili.

CONSERVAZIONE

Conservare il prodotto a 4-8°C, al riparo della luce.

Il terreno pronto ha validità 180 gg.

Conservare il flacone del disidratato ben chiuso in luogo fresco e secco.

PROCEDURA

- Trasferire sterilmente 1 ml della sospensione iniziale del campione solido o 1 ml del campione se liquido al centro di una piastra Petri vuota sterile.
- Eseguire la procedura in doppio.
- Versare 10-11 ml di TSC agar equilibrato a 44°C
- Agitare delicatamente, lasciar solidificare e aggiungere 10 ml dello stesso terreno , lasciar solidificare e incubare a 37°C in anaerobiosi
- Eseguire sulle colonie sospette test di conferma a scelta tra i seguenti:

Conferma con Lattosio solfito brodo

- Trasferire 5 colonie sospette in Tioglicolato Fluidico (codice 1167), incubare in anaerobiosi a 37°C per 18-24 ore.
- Trasferire 5 gocce del brodo Tioglicolato in Lattosio Solfito (codice 20627,20705,121)
- Incubare a 46°C per 18-24 ore
- L'annerimento del brodo e la presenza di gas nella campanella Durham indicano la presenza di Clostridi.

Conferma con Nitrate motility e Gelatina Lattosio

- Inoculare la colonia sospetta in Nitrate motility medium e incubare a 37°C per 24 ore in anaerobiosi.
- Osservare la motilità (crescita diffusa dalla linea di inoculo) ed esaminare la presenza di nitriti aggiungendo da 0.2 a 0.5ml di Reattivo di Gries
- La formazione di colore rosso indica la riduzione dei nitrati a nitriti.

Parallelamente

- Prelevare 5 colonie tipiche cresciute su TSC agar (codice 20509) e inocularle con tecnica ad infissione in provette di Gelatina lattosio
- Incubare a 37°C per 24 ore
- Controllare la presenza di gas e il viraggio del colore del terreno al giallo, indici della fermentazione del lattosio.
- Porre le provette in frigorifero per 1 ora e osservare la liquefazione
Se il terreno non è liquefatto reincubare la provetta per ulteriori 24 ore a 37°C e ripetere la suddetta procedura, in quanto *C.perfringens* fermenta il lattosio e liquefa la gelatina entro 48 ore

CONTROLLO DI QUALITA'

Incubazione a 37°C per 24 ore

Microrganismi	Crescita	Colore colonie
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	buona	nere
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	nulla	

BIBLIOGRAFIA

ISO 7937:2004 - Microbiology of foods and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of *C.perfringens*. Colony Count Technique.