

T.S.C. Agar Base (Tryptose Sulfite Cycloserine) ISO

Kat. 1029

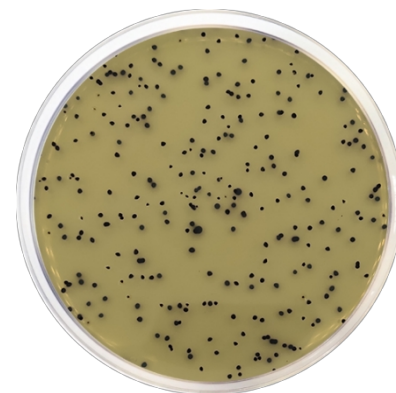
Pro detekci a stanovení počtu *Clostridium perfringens* z potravin.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní výčet	<i>Clostridium perfringens</i>
Detekce	<i>Clostridium perfringens</i>

Odvětví aplikace: Vodárenství / Potravinářství

Předpisy: ISO 11133 / ISO 14189 / ISO 7937



Principy a použití

T.S.C. Agar Base (Tryptose Sulfite Cycloserine) byl původně vytvořen firmou Harmon pro presumptivní identifikaci a stanovení počtu *Clostridium perfringens* z potravin. Toto médium bylo zdokumentováno jako jedno z nejužitečnějších médií pro kvantitativní výtěžnost *C. perfringens*, přičemž potlačuje růst jiných fakultativních anaerobů. Toto médium doporučuje Mezinárodní organizace pro normalizaci ISO. V závislosti na složení se přidávají doplňky, které zvyšují selektivitu média. Doplněk vaječná žloutková emulze (LC5152) se přidává pro průkaz lecitinázové aktivity a po inkubaci produkující lecitinázy vytvářejí v okolí kolonií neprůhlednou oblast.

Vynikající živná základna poskytuje optimální podmínky pro vývoj klostridií. Tryptóza a sójový pepton poskytují dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Kvasinkový extrakt je zdrojem vitaminů, zejména skupiny B, nezbytných pro růst bakterií. Citrát železito-amonný a disiřičitan disodný jsou indikátory H₂S. Bakteriologický agar je zpevňující činidlo. Cykloserin inhibuje doprovodnou bakteriální flóru a může způsobit, že vzniklé kolonie zůstanou menší.

Kolonie produkující sirovodík se vyznačují zčernáním v důsledku reakce s železitou solí. Rozkladem lecitinu vaječného žloutku vznikají nerozpustné produkty, které se hromadí kolem kolonií a vytvářejí bílou sraženinu. Po 24 hodinách inkubace je třeba všechny černé kolonie, lecitináza pozitivní i lecitináza negativní, považovat za pozitivní presumptivní *C. perfringens* a provést příslušné konfirmační testy.

Složení v g/l

Enzymatický digest kaseinu	15	Bakteriologický agar	15
Disiřičitan disodný (bezvodý)	1	Citrát železito-amonný	1
Kvasinkový extrakt	5	Enzymatický rozklad sóji	5

Příprava

Suspendujte 42 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Zchlaďte médium podle platného normativu a asepticky přidejte dvě lahvičky Selektivního doplňku *Clostridium perfringens* Supplement (LC6020). V případě potřeby lze přidat 25 ml doplňku vaječné žloutkové emulze (LC5152) (není uvedeno v normativu ISO). Jemně homogenizujte a rozdělte do Petriho misek.

Návod k použití

Stanovení počtu *Clostridium perfringens* v potravinách podle ISO 7937:

- Přeneste 1 ml počáteční suspenze do prázdných Petriho misek.
- Do misky nalijte 10 až 15 ml TSC agarů (44-47 °C) a jemným kroužením misky promíchejte s inokulem. Po ztuhnutí média přidejte 10 ml TSC agarů.
- Inkubujte za anaerobních podmínek při 37 °C po dobu 20 ± 2 hodin.
- Po 24 hodinách inkubace je třeba všechny černé kolonie, lecitináza pozitivní i lecitináza negativní, považovat za pozitivní na *C. perfringens* a musí být provedeny odpovídající konfirmační testy.

Stanovení počtu *Clostridium perfringens* ve vzorcích vody podle ISO 14189:

- Přefiltrujte odměřený objem vody, abyste získali 10-80 kolonií na membráně.
- Umístěte membránu na agarovou desku TSC.
- Inkubujte destičky s filtry za anaerobních podmínek při 44 ± 1 °C po dobu 21 ± 3 hodin, obráceně.
- Po 24 hodinách inkubace je třeba všechny černé kolonie, lecitináza pozitivní i lecitináza negativní, považovat za pozitivní presumptivní *C. perfringens* a provést příslušné konfirmační testy.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
Bez zbytku	Jemný prášek	Běžová	Jantarová, lehce opaleskující	7,6±0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133, Potravinářská mikrobiologie: *Clostridium perfringens* a *Escherichia coli*.

Inkubační podmínky: (37 ± 1 °C, anaerobní prostředí / 20 ± 2 h).

Podmínky očkování: 50 CFU) / selektivita (10^4 - 10^6 CFU). Referenční média: TSA

Podle normy ISO 11133, Mikrobiologie vody: *Clostridium perfringens* a *Bacillus subtilis*. Inkubační

podmínky: (44 ± 1 °C, anaerobní prostředí / 21 ± 3 h).

Podmínky očkování: 50 CFU) / selektivita (10^4 - 10^6 CFU). Referenční média: TSA

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Dobrý růst > 50 %	Černé kolonie
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Celková inhibice	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Celková inhibice	

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

Sahidi S.A. a Ferguson A.R. (1971) Appl. Microbiol, 21 500-506. Harmon S.M., Kauttar D.A. a Peeler J.T. (1971) Appl. Microbiol. 21 922-927. Hauschild A.H.W. a Hilsheimer R. (1973) Appl. Microbiol. 21, 21. 27. 78-82.

Mezinárodní norma ISO 7937 Mikrobiologie potravin a krmiv-Horizontální metoda stanovení počtu bakterií *Clostridium perfringens* - technika počítání kolonií

Mezinárodní norma ISO 14189 Jakost vod - Stanovení počtu *Clostridium perfringens* - Metoda membránové filtrace