

INSTRUÇÕES DE USO

AGAR BASE TSC

Meio recomendado para a detecção e enumeração de *Clostridium perfringens* em alimentos.

Descrição

O AGAR BASE TSC (Tryptose Sulfito Cicloserina) é um meio recomendado para a detecção e enumeração seletiva de *Clostridium perfringens* em alimentos.

Composição

Fórmula em g/L	
Digestão enzimática da caseína	15,0
Ágar bacteriológico	15,0
Extrato de levedura	5,0
Digestão enzimática de soja	5,0
Dissulfito dissódico anidro	1,0
Citrato de amônio férrico	1,0
pH 7,6 ± 0,2 a 25°C	

Preparação

Suspender 42 gramas do meio em um litro de água destilada. Misture bem e dissolva sob agitação frequente. Ferva por um minuto até dissolução completa. Esterilize em autoclave a 121°C por 15 minutos. Resfrie o meio de acordo com a normativa aplicável e, asepticamente, adicione dois frescos do Suplemento Seletivo para *Clostridium perfringens* reconstituídos (cada um) em 5 mL de água destilada estéril aquecida. Se desejável, 25 mL do Suplemento de emulsão de gema de ovo podem ser adicionados (não indicado na normativa ISO). Homogenize gentilmente e dispense em placas de petri.

Usos

O agar base TSC foi originalmente formulado por Harmon para a identificação presuntiva e enumeração de *Clostridium perfringens* em alimentos. O meio tem sido documentado como um dos vários meios utilizados para a recuperação quantitativa de *C. perfringens*, enquanto suprime o crescimento de outras bactérias anaeróbicas facultativas. O meio é recomendado pelo Comitê de Normativas ISO. Dependendo da formulação, suplementos são adicionados para aumentar a seletividade do meio. O suplemento de emulsão de gema de ovo é adicionado para a demonstração da atividade lecitinase que, após a incubação, as bactérias produtoras de lecitinase produzem uma área opaca ao redor das colônias.

A base nutriente proporciona condições ótimas para o desenvolvimento de Clostridia. A triptose e a peptona de soja provêm nitrogênio, vitaminas, minerais e aminoácidos essenciais para o crescimento. O extrato de levedura é fonte de vitaminas, particularmente do complexo B, essenciais para o crescimento bacteriano. O citrato de amônio férrico e o dissulfito dissódico são indicadores de H₂S. O ágar bacteriológico é o agente solidificante. A cicloserina inibe a flora bacteriana associada e pode fazer com que as colônias se desenvolvam e permaneçam menores.

As colônias que produzem sulfeto de hidrogênio são caracterizadas por um enegrecimento devido a reação com o sal férrico. A degradação da lecitina de gema de ovo gera produtos insolúveis que acumulam ao redor das colônias, formando um precipitado branco. Após 24 horas de incubação, todas as colônias negras, licitina positiva bem como as licitina negativa, devem ser consideradas como presuntivas para *C. perfringens* e os testes confirmatórios correspondentes devem ser feitos.

Instruções de Uso

Enumeração de *Clostridium perfringens* em alimentos, de acordo com a ISSO 7937

- Transfira 1 mL da suspensão inicial para placas de petri vazias.

- Derrame 10 a 15 mL do agar TSC (44-47°C) nas placas e misture com o inóculo rotacionando gentilmente cada placa. Quando o meio solidificar, adicione uma sobrecamada de 10 mL de ágar TSC.
- Incube sob condições anaeróbicas a 37°C por 20 ± 2 horas.
- Após 24 horas de incubação, todas as colônias negras, as lecitinase positiva e as lecitinase negativa devem ser consideradas como positivas presuntivas para *C. perfringens* e os testes confirmatórios correspondentes devem ser realizados.

Enumeração de *Clostridium perfringens* em amostras de água de acordo com a ISSO 14189:

- Filtre um volume conhecido de água, para produzir entre 10 e 80 colônias na membrana.
- Coloque a membrana na placa de agar TSC.
- Incube as placas com os filtros, sob condições anaeróbicas a 44 ± 1°C por 21 ± 3 horas, invertidas.
- Após 24 horas de incubação, todas as colônias negras, as lecitinase positiva e as lecitinase negativa devem ser consideradas como positivas presuntivas para *C. perfringens* e os testes confirmatórios correspondentes devem ser realizados.

Controle de Qualidade

Solubilidade	Aparência	Cor do meio desidratado	Cor do meio preparado	pH final (25°C)
Sem resultados	Pó fino	Bege	Âmbar, levemente opalescente	7,6 ± 0,2

Teste Microbiológico

Conforme ISO 11133, Microbiologia de alimentos: *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli*.

Condições de incubação: 37 ± 1 °C, atmosfera anaeróbica, 20 ± 2 h.

Condições de inoculação: Produtividade quantitativa (100 ± 20 Min. 50 UFC)/ Seletividade (10⁴ – 10⁶ UFC).

Meio de referência: TSA.

Conforme ISO 11133, Microbiologia da água: *Clostridium perfringens* e *Bacillus subtilis*.

Condições de incubação: 44 ± 1 °C, atmosfera anaeróbica, 21 ± 3 h.

Condições de inoculação: Produtividade quantitativa (100 ± 20 Min. 50 UFC)/ Seletividade (10⁴ – 10⁶ UFC).

Meio de referência: TSA.

Microorganismo	Especificação	Reação característica
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Crescimento bom > 50%	Colônias negras
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibição total	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Inibição total	

Armazenamento

Armazenar entre 2 e 25°C

Referências

Sahidi S.A. and Ferguson A.R. (1971) Appl. Microbiol, 21 500-506. Harmon S.M., Kauttar D.A. and Peeler J.T. (1971) Appl. Microbiol. 21 922-927.

Hauschild A.H.W. and Hilsheimer R. (1973) Appl. Microbiol. 27. 78-82.

International standard ISO 7937 Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for enumeration of *Clostridium perfringens* –colony count technique.

International standard ISO 14189 Water quality — Enumeration of *Clostridium perfringens* — Method using membrane filtration.

Para maiores informações

Telefone: (41) 3535-0900

Fax: (41) 3535-0901

E-mail: kasvi@kasvi.com.br

URL: www.kasvi.com.br