Instructions For Use
ENGLISH

Tryptose Sulfite Cycloserine Agar

Selective medium for the isolation and enumeration of
Clostridium perfringens, according to ISO 14189 and EN ISO 7937.

DESCRIPTION

Tryptose Sulfite Cycloserine (TSC) Agar is a selective and differential medium used for the detection of *Clostridium perfringens* from water, food, animal feed and environmental samples in the area of food production and food handling.

This medium complies with the specifications given by ISO 14189 and EN ISO 7937.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Enzymatic Digest of Casein	15.0
Enzymatic Digest of Soya	5.0
Yeast Extract	5.0
Sodium Disulfite, anhydrous	1.0
Iron(III) Ammonium Citrate	1.0
Cycloserine	0.4
Agar	15.0
Final pH 7.6 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of casein and enzymatic digest of soya provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Sodium metabisulfite and ferric ammonium citrate are H_2S indicators. Cycloserine is the selective agent. Agar is the solidifying agent.

TEST PROCEDURE AND EVALUATION

For water analysis according to ISO 14189, inoculate TSC agar (60mm Plate) by using the membrane filtration technique. Incubate the plates inverted at 44 ± 1°C for 18-24 hours under anaerobic atmosphere.

Enumerate the presumptive *C. perfringens* by counting all colonies which show black or grey to yellow brown staining when viewed from either above or below the membrane filter.

For confirmation, subculture colonies on Columbia agar base or another nutrient-rich agar such as Tryptic Soy Agar. Incubate anaerobically at 36 ± 2°C for 18-24 hours. Carry out the acid phosphatase test (ref. 97016) to complete the identification of *C. perfringens* (positive reaction).

For food, animal feed and environmental samples according to EN ISO 7937, inoculate TSC agar (90mm Plate) by spreading 0.1 ml of the initial suspension or decimal dilution over the agar surface (*). Incubate the plates inverted at 37 ± 1°C for 18-22 hours under anaerobic atmosphere. Longer incubation may result in excess blackening of the plates.

Count the characteristic black colonies. ISO 7937 recommends two alternatives for confirmation: characteristic growth on Lactose Sulfite (LS) Broth (ref. 24468) at 46°C or biochemical tests, i.e.lactose fermentation, gelatin liquefaction, nitrate reduction and motility.

Consider as *C. perfringens* those bacteria that produce black colonies on TSC agar, are non-motile, reduce nitrate to nitrite, produce acid and gas from lactose and liquefy gelatin in 48 hours.

*__Note__: For inoculation by the pour plating technique as recommended by ISO 7937, Tryptose Sulfite Cycloserine Agar Base (ref. 402720) can be used.

APPEARANCE

Slightly opalescent, amber.

STORAGE

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

6 months.

QUALITY CONTROL

The medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.
Inoculum for productivity: 50-100 CFU.
Inoculum for selectivity: 10^3-10^4 CFU.

QC Table.

Strain		Incubation	Criteria	Characteristic reaction
Clostridium perfringens	WDCM 00007	21 ± 3 h / 44 ± 1°C anaerobic	Pr ≥ 0.5	Black colonies
Bacillus subtilis	WDCM 00003		Inhibition	—-
Clostridium perfringens	WDCM 00007	20 ± 2 h / 37 ± 1°C anaerobic	Pr ≥ 0.5	Black colonies
Escherichia coli	WDCM 00012		Inhibition	—-

A productivity ratio (Pr) of 0.5 is equivalent to a recovery rate of 50%.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended professional use only and must be used by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 14189:2013. Water quality – Enumeration of *Clostridium perfringens* – Method using membrane filtration.
3. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Clostridium perfringens* – Colony-count technique.
4. Downes F.P., and K. Ito (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4thed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Food and Drug Administrations (1998) Bacteriological Analytical Manual 8th ed. AOAC
6. Emswiller B.S., C.J. Pierson and A.W. Kotula (1977) Comparative study of two methods for detection of *Clostridium perfringens* in ground beef. Appl. Envir. Microbiol. 33:735-737.
7. Harmon S.M.(1976) Collaborative study for an improved method for the enumeration and confirmation of *Clostridium perfringens* in foods. J. AOAC. 59:606-612.
8. Rapporti ISTISAN 07/5 ISSA 005B Rev.00. Determinazione di *Clostridium perfringens* (solo su acque provenienti o contaminate da acque superficiali).

PRESENTATION	Format	Packaging	Ref.
Tryptose Sulfite Cycloserine Agar	60 mm Plate (membrane placement)	20 plates	163872
Tryptose Sulfite Cycloserine Agar	90 mm Plate	20 plates	10449

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	Keep away from sunlight	Manufacturer	Use by	Fragile, handle with care
REF Catalogue number	Temperature limitation	Contains sufficient for <n> tests	Caution, consult Instruction For Use	Do not reuse

This document is available from the online Support Center:
liofilchem.com/ifu-sds

Istruzioni per l'uso

ITALIANO

Tryptose Sulfite Cycloserine Agar

Terreno selettivo per l'isolamento ed il conteggio di
Clostridium perfringens, secondo ISO 14189 e EN ISO 7937.

DESCRIZIONE

Tryptose Sulfite Cycloserine (TSC) Agar è un terreno selettivo e differenziale utilizzato per la ricerca di *Clostridium perfringens* nelle acque, alimenti, mangimi e campioni ambientali provenienti dalle aree di produzione e manipolazione degli alimenti.

Il terreno è conforme alle specifiche date dalla ISO 14189 ed EN ISO 7937.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Enzimatico di Caseina	15.0
Digerito Enzimatico di Soia	5.0
Estratto di Lievito	5.0
Sodio Disolfito, anidro	1.0
Ferro(III) Ammonio Citrato	1.0
Cicloserina	0.4
Agar	15.0
pH Finale 7.6 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

Digerito enzimatico di caseina e digerito enzimatico di soia forniscono amminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, in particolare del gruppo B. Sodio metabisolfito ed ammonio citrato ferrico sono indicatori per la produzione di H_2S. La cicloserina è l'agente selettivo. L'agar è l'agente solidificante.

PROCEDURA E VALUTAZIONE DEL TEST

Per l'analisi delle acque secondo ISO 14189, inoculare TSC agar (Piastre da 60 mm) utilizzando la tecnica della filtrazione su membrana. Incubare le piastre in posizione invertita a 44 ± 1°C per 18-24 ore in atmosfera anaerobica.

Contare come colonie presuntive di *C. perfringens*, tutte le colonie che mostrano una colorazione nera o grigio/giallo-marrone sia sopra sia sotto la membrana.

Per confermare, trasferire le colonie su Columbia agar base o un altro terreno ricco in nutrienti come ad esempio Tryptic Soy Agar. Incubare in anaerobiosi a 36 ± 2°C per 18-24 ore. Effettuare il test della fosfatasi acida (ref. 97016) per completare l'identificazione di *C. perfringens* (reazione positiva).

Per alimenti, mangimi e campioni ambientali secondo EN ISO 7937, inoculare TSC agar (Piastra da 90 mm) per spatolamento con 0.1 ml della sospensione iniziale del campione o sua diluizione decimale (*). Incubare le piastre in posizione invertita a 37 ± 1°C per 18-22 ore sotto atmosfera anaerobica. Un'incubazione prolungata può causare un eccessivo annerimento delle piastre.

Contare le caratteristiche colonie nere. La ISO 7937 raccomanda due metodi alternativi per la conferma: crescita caratteristica su Lactose Sulfite (LS) Broth (ref. 24468) a 46°C o test biochimici, quali fermentazione del lattosio, liquefazione della gelatina, riduzione dei nitrati e motilità.

Considerare come *C. perfringens* quei batteri che producono colonie nere su TSC agar, non motili, che riducono i nitrati a nitriti, producono acido e gas dal metabolismo del lattosio e liquefano la gelatina in 48 ore.

*__Nota__: Per la semina per inclusione, tecnica raccomandata dalla ISO 7937, si può utilizzare Tryptose Sulfite Cycloserine Agar Base (ref. 402720).

ASPETTO

Ambra, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

6 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il terreno viene inoculato con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.
Inoculo per produttività: 50-100 UFC.
Inoculo per selettività: 10^3-10^4 UFC.

Tabella CQ.

Ceppo		Incubazione	Criteri	Reazione caratteristica
Clostridium perfringens	WDCM 00007	21 ± 3 h / 44 ± 1°C anaerobica	Pr ≥ 0.5	Colonie nere
Bacillus subtilis	WDCM 00003		Inibizione	—-
Clostridium perfringens	WDCM 00007	20 ± 2 h / 37 ± 1°C anaerobica	Pr ≥ 0.5	Colonie nere
Escherichia coli	WDCM 00012		Inibizione	—-

Un rapporto di produttività (Pr) di 0.5 è equivalente a un tasso di recupero del 50%.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso in ambito professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
2. ISO 14189:2013. Water quality – Enumeration of *Clostridium perfringens* – Method using membrane filtration.
3. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Clostridium perfringens* – Colony-count technique.
4. Downes F.P., and K. Ito (2001) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Food and Drug Administrations (1998) Bacteriological Analytical Manual 8th ed. AOAC
6. Emswiller B.S., C.J. Pierson and A.W. Kotula (1977) Comparative study of two methods for detection of *Clostridium perfringens* in ground beef. Appl. Envir. Microbiol. 33:735-737.
7. Harmon S.M.(1976) Collaborative study for an improved method for the enumeration and confirmation of *Clostridium perfringens* in foods. J. AOAC. 59:606-612.
8. Rapporti ISTISAN 07/5 ISSA 005B Rev.00. Determinazione di *Clostridium perfringens* (solo su acque provenienti o contaminate da acque superficiali).

PRESENTAZIONE	Formato	Confezione	Ref.
Tryptose Sulfite Cycloserine Agar	Piastra 60 mm (posizionamento membrana)	20 piastre	163872
Tryptose Sulfite Cycloserine Agar	Piastra 90 mm	20 piastre	10449

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT	Codice del lotto		Tenere al riparo dalla luce		Fabbricante		Utilizzare entro		Fragile, maneggiare con cura
REF	Numero di catalogo		Limiti di temperatura		Contenuto sufficiente per <n> saggi		Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso		Non riutilizzare

Questo documento è disponibile dal Support Center online:
liofilchem.com/ifu-sds

LIOFILCHEM® s.r.l.
Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com liofilchem@liofilchem.com