

TSC-Agar (Basis)

Zur Detektion und Zählung von *Clostridium perfringens*. Auch Basis von SFP-Agar.
ISO 11133 / DEV / ISO 7937 / ISO 14189 / für die Mikrobiologie
CL51

Zusammensetzung in g/l:

Tryptose.....	15,0
Sojapepton.....	5,0
Hefeextrakt	5,0
Natriumdisulfit.....	1,0
Ammoniumeisen(III)-citrat.....	1,0
Agar	15,0
pH-Wert.....	7,6 ± 0,2

HERSTELLUNG

TSC-Agar¹: 21 g des Mediums werden in 500 ml destilliertem Wasser suspendiert. Erhitzen bis der Agar vollständig gelöst ist. Autoklavieren für 15 min. bei 121 °C. Man kühle auf 45-50 °C ab und gebe unter sterilen Bedingungen ein Röhrchen (6 ml) steril rekonstituierten Clostridium perfringens-Zusatz zu (Best.-Nr. CL52.1). Wenn gewünscht, weiterhin 25 ml Eigelbemulsion (Best.-Nr. 0402.1) zugeben. Gut mischen und in Petrischalen gießen.

SFP-Agar (Agar nach Shahidi und Ferguson²) erhält man durch Ansatz (wie oben) von 450 ml TSC-Agar (Basis) mit 21 g des Trockenmediums. Nach Autoklavieren und Abkühlen: Zugabe von 50 ml Eigelbemulsion (Best.-Nr. 0402.1) und 5 ml einer sterilfiltrierten Lösung aus 1,5 mg Polymyxin B Sulfat (Best.-Nr. 0235) und 6 mg Kanamycin (Best.-Nr. T832) in destilliertem Wasser.

EINSATZGEBIET

TSC-Agar (Basis) ist ein reichhaltiges Medium zur Kultivierung und Detektion von *Clostridium perfringens* basierend auf der Detektion von Schwefelwasserstoffproduktion und Anwesenheit der Lecitinase. Es kann weiterhin sehr gut für die Wiederanzucht gestresster Vergleichsstämme verwendet werden.

Die Mischung sorgt für eine optimale Versorgung der Clostridien mit Nährstoffen und für eine schnelle Proliferation, während das Ammoniumeisen(III)-citrat und das Natriumdisulfit die Produktion von H₂S durch die Bakterien nachweisen und eine Schwarzfärbung der Kolonien bewirken. Cycloserin (*Clostridium perfringens* Zusatz, Best.-Nr. CL52.1) inhibiert die Begleitflora und reduziert die Größe der Kolonien, die trotzdem wachsen.*

Petrischalen werden mit den Proben angeimpft und anaerob bei 44 °C für 18 - 24 Stunden inkubiert. Kolonien, die Schwefelwasserstoff produzieren, können an Hand der Schwarzfärbung durch die Eisenreduktion identifiziert werden.

Der Abbau des Eigelblecithins ergibt unlösliche Produkte, die in der Umgebung der Kolonien akkumulieren und ein weißes Präzipitat bilden**. Nach 24 Stunden Inkubation werden alle schwarzen, braunen und grauen Kolonien* – Lecithinase-positive und Lecithinase-negative – als mutmaßlich *C. perfringens* positiv angesehen und ihre Identität durch Folgetests bewiesen, z.B. Gelatinehydrolyse auf Gelatine-Agar (Best. Nr. HP07) oder Rotfärbung nach Alkalisierung durch Ammoniakbedämpfung auf m-CP-Agar (Best.-Nr. CL55).

* Bitte beachten: Cycloserin behindert die Schwarzfärbung der *C. perfringens* Kolonien. Als Resultat wachsen *C. perfringens* Kolonien auf TSC-Agar plus Cycloserin oft in grauer oder brauner Farbe.

** Bitte beachten Sie auch: Die Fähigkeit mancher *Clostridium perfringens* Stämme, Lecithin abzubauen und einen opaken Hof in der Umgebung der Kolonien zu erzeugen, kann nicht als allgemeines Merkmal aller *C. perfringens* Stämme angesehen werden.

MIKROBIOLOGISCHE TESTS

Die folgenden Ergebnisse wurden erzielt nach Inkubation von Referenzstämmen im angegebenen Agar bei einer Temperatur von 44 °C für 18 - 24 Stunden.

Mikroorganismen	Wachstum	Schwarze Kolonien
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 10543	Gut	+
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Gut	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Null	-

¹ Harmon et al. (1971) *Appl. Microbiol.* 22:688-92

² Shahidi, S.A., und Ferguson, A.R. (1971) *Appl. Microbiol.* 21:500-6

!
Achtung H319 P280-P305+P351+P338-P337+P313

Product Data Sheet



TSC Agar (Base)

For detection and enumeration of *Clostridium perfringens*. Also base for SFP Agar.
ISO 11133 / DEV / ISO 7937 / ISO 14189 / for Microbiology
CL51

Formulation in g/l:

Tryptose	15.0
Soy peptone.....	5.0
Yeast extract.....	5.0
Sodium bisulfite	1.0
Ammonium iron(III)-citrate	1.0
Agar	15.0
Final pH	7.6 ± 0.2

PREPARATION

TSC Agar¹: Suspend 21 g of the medium in 500 ml of distilled or deionised water. Heat until the medium is completely dissolved. Sterilise by autoclaving for 15 mins. at 121 °C. Cool to 40 – 50 °C and aseptically add 1 vial (6 ml) reconstituted (sterile) *Clostridium perfringens* Supplement (Art. No. CL52.1). If desired, also add 25 ml reconstituted egg yolk emulsion (Art. No. 0402.1). Mix well and pour into petri dishes.

SFP Agar (agar acc. to Shahidi and Ferguson²) is produced by dissolving 21 g of the anhydrous TSC Agar (Base) in 450 ml water. After sterilisation and cooling add 50 ml egg yolk emulsion (Art. No. 0402.1) and 5 ml of the following solution (sterile filtered): 1.5 mg Polymyxin B sulphate (Art. No. 0235) and 6 mg Kanamycin (Art. No. T832) in distilled water.

USES

TSC Agar (Base) is a nutrient medium for the cultivation and detection of *Clostridium perfringens* based on hydrogen sulfide gas production and lecithinase detection. It is also useful for the recovery of stressed cultures.

The superior nutrient base provides optimal conditions for the development of *Clostridia*, while ferric ammonium citrate and sodium bisulfite are added for indication of H₂S produced by the bacteria and cause colonies to adopt a black colour.

Cycloserine (*Clostridium perfringens* Supplement, Art. No. CL52.1) inhibits the accompanying bacterial flora and reduces the size of the colonies that grow nevertheless*.

Petri dishes are inoculated with sample and incubated anaerobically at 44 °C for 18 - 24 hours. Colonies producing hydrogen sulfide are characterized by a blackening due to reduced iron. Degradation of egg yolk lecithin produces insoluble products which accumulate around the colonies, forming a white precipitate**. After 24 hours incubation, all black, brown and grey colonies*, lecithinase positive as well as the lecithinase negative ones, have to be considered as presumptively *C. perfringens*, and have to be confirmed by subsequent tests, e.g. gelatin hydrolysis on Gelatin Agar (Art. No. HP07), or alkaliisation by exposure to ammonium hydroxide vapours on m-CP Agar (Art. No. CL55).

* Note: Cycloserine also hinders blackening of the *C. perfringens* colonies. As a result, *C. perfringens* often grows in grey or brown colonies on TSC Agar plus cycloserine.

** Also note: The capacity of certain *Clostridium perfringens* strains to produce an opaque area in the colony surroundings by lecithin degradation is not recognized as a universal character for all *C. perfringens*.

MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the given medium from type cultures after incubation at a temperature of 44 °C and observed after 18 - 24 hours.

Microorganisms	Growth	Black colonies
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 10543	Good	+
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Good	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Null	-

¹ Harmon et al. (1971) *Appl. Microbiol.* 22:688-92

² Shahidi, S.A., and Ferguson, AR (1971) *Appl. Microbiol.* 21:500-6

TSC-Agar (Base)

500 g

CL51.1

 **Warning** H319 P280-P305+P351+P338-P337+P313

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoenperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.com • www.carlroth.com

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdet. Sales tax identification number: DE 143621073.

jh 09/2021

