

## Especificación

Medio de cultivo sólido, para el aislamiento e identificación presuntiva de *Clostridium perfringens* según las normas ISO.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
30 Placas Filtración Placas filtración 55 mm con: 9 ± 1 ml	1 caja que contiene: 5 bolsas de plástico con 6 placas de 55 mm ø /bolsa.	6 meses	2-25°C

## Composición

Composición (g/l):

Triptosa.....	15,00
Peptona de soja.....	5,00
Extracto levadura.....	5,00
Metabisulfito sódico.....	1,00
Citrato férrico amónico.....	1,00
Cicloserina.....	0,40
Agar.....	14,0

## Descripción/Técnica

### Descripción:

El Medio de Triptosa-Sulfito-Cicloserina es una modificación del medio clásico del TSN de Marshall, Steenbergen y McClung en el que se han sustituido los antibióticos tradicionales, polimixina y neomicina, por la cicloserina. Este último antibiótico se ha manifestado más selectivo para *Clostridium perfringens* que los anteriores y además parece disminuir la tendencia a producir el ennegrecimiento difuso que se presenta en este género. Por otra parte, *Clostridium perfringens* es más resistente a la cicloserina que a la sulfadiazina, polimixina y neomicina, lo que permite una dosificación más eficaz. El medio incorpora meta-bisulfito sódico y citrato férrico-amónico para poner de manifiesto la capacidad reductora de sulfitos y de esta forma se puede verificar en un solo ensayo las tres características diferenciales de esta especie anaeróbica: sulfito-reducción, crecimiento a 46°C y resistencia a la cicloserina.

### Técnica:

Recopilar, diluir y preparar muestras y volúmenes a filtrar según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directivas, normativas y / o resultados esperados.

Se filtra la muestra a través de una membrana de 0,45 micras de poro y se aplican sobre la superficie del agar.

Cubrir la membrana con una segunda capa de agar fundido a temperatura ambiente.

Incubar las placas anaeróticamente a 44±1°C durante 21±3h.

(Los tiempos de incubación mayores que las mencionadas temperaturas de incubación superiores o diferentes pueden ser necesarios dependiendo de la muestra, y de las especificaciones)

Después de la incubación, enumerar las colonias que tengan centro negro.

La confirmación de colonias características como *C.perfringens* es necesario, a través de otras pruebas microbiológicas y bioquímicas.

## Control de Calidad

### Control Físico/Químico

Color : amarillo                                  pH: 7,6 ± 0,2 a 25°C

### Control de Fertilidad

Filtración con membrana /rango práctico 100±20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad). /10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC para Selectividad.

Control microbiológico según normativa UNE-EN ISO 11133:2014/ A1:2018.

Anaerobiosis . Incubación a 44 ± 1°C durante 21 ± 3h.

### Microorganismo

*Clostridium perfringens* ATCC® 13124, WDCM 00007, NCTC®

*Clostridium perfringens* ATCC® 10543, WDCM 00174

*Bacillus subtilis* ATCC® 6633, WDCM 00003

### Desarrollo

Bueno ≥ 50%. Colonias negras.

Bueno ≥ 50%. Colonias negras.

Inhibido

### Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35°C y 48 horas a 20-25°C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

**Bibliografía**

- ATLAS, R.M., LC. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- DIN Standard 10165. Referenz Verfahren fur Bestimmung von *Clostridium perfringens*. Fleisch und Fleischerzeugnissen.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4<sup>th</sup> ed. American Public Health Association. Washington.
- DIRECTIVA 2015/1787/UE de la Comisión por la que se modifica la Directiva 98/ 83/CE relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano (DO L260 de 7.10.2015 pg 6 y ss)
- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8<sup>th</sup> ed. Revision A. AOAC International Inc. Gaithersburg. MD.
- ISO 7937 (2004) Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Method for Enumeration of *C. perfringens*. Colony-count technique.
- ISO Norma 6461-2 (1986) Water Quality.- Detection and enumeration of the spores of sulfite-reducing anaerobes (Clostridia).- Part 2: Method by Membrane Filtration.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 14189 (2013) Water quality. Enumeration of *Clostridium perfringens* – Method using membrane filtration
- SMITH, L.D. (1981) Clostridial Anaerobic Infections, in Diagnostic Procedures for Bacterial Mycotic and Parasitic Infections. 6<sup>th</sup> ed. APHA. Washington.
- UNE-EN ISO 11133 (2014). Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua.-Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo.