

Especificación

Suplemento selectivo estéril para el aislamiento e identificación presuntiva de *Clostridium perfringens* según las normas ISO y otras normativas.

Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Viales			
Vial con: 6 ± 0.1 g	1 caja con 10 viales de vidrio de 22±0,25 x 55±0,5 mm, con tapón de plástico. Etiquetados.	49 meses	2-25 °C

Composición

Composición vial (g/vial)

Nota: cada vial es suficiente para 500 ml de medio TSC Agar Base.

D-Cicloserina..... 0.200

Reconstituir el vial liofilizado con la adición :

Agua destilada estéril..... 6 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

Añadir el Suplemento Selectivo de D- Cicloserina a la Base del Agar TSC, para obtener un medio selectivo que facilite el aislamiento de *Clostridium perfringens* y su enumeración. 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 44 °C ± 1. y resistencia a la cicloserina.

Técnica:

Recoger, diluir y preparar las muestras de acuerdo al volumen y especificaciones requeridas según normativas a seguir.

Reconstituir el vial y añadir asepticamente a 500 ml del medio base (TSC Agar) previamente reconstituido.

No sobrecalentar después de añadir el suplemento.

Distribuir el medio en placas o tubos, según el método de siembra elegido: Método de siembra en espiral, o banco de dilución en tubos.

Incubar en atmósfera anaeróbica a 35 ± 2°C for 20-24h. Si se quiere un medio más selectivo incubar a 44°C ± 1.

El aislamiento presuntivo de *Clostridium perfringens*, por la aparición de colonias negras, precisará la confirmación posterior por métodos bioquímicos o microbiológicos.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Blanco grisáceo

pH: a 25°C

Control de Fertilidad

Rehidratar 1 vial como se indica en COMPOSITION; agitar y disolver completamente.

Añadir 1 vial a 500 ml de medio base. NO CALENTAR una vez suplementado.

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

Microorganismo

Clostridium perfringens ATCC® 13124, WDCM 00007, NCTC® 8237

Clostridium perfringens ATCC® 10543, WDCM 00174

Bacillus subtilis ATCC® 6633, WDCM 00003

Desarrollo

Bueno - Colonias negras

Bueno - Colonias negras

Inhibido

Control de Esterilidad

Añadir 5 ml de muestra a 100 ml de TSB y a 100 ml de Tioglicolato.

Bibliografía

- ATLAS, R.M., L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- DIN Standard 10165. Referenz Verfahren für Bestimmung von *Clostridium perfringens*. Fleisch und Fleischerzeugnissen.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th 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. 8th 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. 6th 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.