

### 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 g	1 caja con 5 blisters (base de aluminio PVDC y bolsa de celofán) con 6 placas de 55mm por blister.	7 meses	8-25°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 sulfadiacina, 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 44-46C durante 24-48h.

(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

#### Control de Fertilidad

Filtración con membrana /10-100\* UFC para Productividad o 1000-1000 UFC para Selectividad.

Anaerobiosis . Incubación a 44 ± 2°C durante 20-24 horas.

#### Microorganismo

#### Desarrollo

*Clostridium perfringens* ATCC 13124

Bueno - Colonias negras

*Clostridium perfringens* ATCC 10543

Bueno - Colonias negras

*Escherichia coli* ATCC 25922

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. 4th ed. American Public Health Association. Washington.
- FDA (Food and Drug Adminstrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Revision A. AOAC International Inc. Gaithersburg. MD.
- ISO Norma 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.
- SMITH, L.D. (1981) Clostridial Anaerobic Infections, in Diagnostic Procedures for Bacterial Mycotic and Parasitic Infections. 6th ed. APHA. Washington.