



Clostridium perfringens. UNE-EN ISO 14189:2017

Procedimiento

Pretratamiento para seleccionar esporas

Calentar un volumen de mayor que la muestra a analizar y calentar a $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 15 ± 1 min

Filtración por membrana

Filtrar 100 ml de agua en TSC Agar. Realizar diluciones si fuera necesario (ver ISO 8199)

CM0587B TSC Agar base (ISO) (500 g) +

SR0088E TSC Selective Supplement (ISO) (10 viales)

PO5315A Tryptose Sulfite Cycloserine Agar (TSC Agar ISO) (20 placas)

De manera alternativa se puede añadir una capa de 5 a 10 ml de TSC sin antibióticos fundido y mantenido a $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Incubar anaerómicamente a $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 21 ± 3 h

AN0025A AnaeroGen 2,5 l (10 sobres)

AG0025A AnaeroJar 2,5 l (Unidad)



Recuento

Tras la incubación, enumerar los *C. perfringens* presuntivos, contando aquellas colonias que muestren un color de negro o gris a marrón amarillento.

Confirmación presuntivos

Si 1-10 colonias negro / gris a marrón amarillento, subcultivar todas las colonias en agar sangre

PB5039A Agar sangre (20 placas)

Si >10 colonias negro / gris a marrón amarillento, subcultivar al menos 10 colonias en agar sangre

PB5039A Agar sangre (20 placas)

Incubar anaerómicamente a $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 21 ± 3 h

Seleccionar colonias crecidas anaerómicamente y realizar la prueba de **fosfatasa ácida** sobre papel de filtro.

Se considera **positivo** un cambio de color a violáceo en 3 – 4 minutos

Recuento de colonias totales y confirmadas (*C. perfringens* presuntivos y *C. perfringens* confirmados)

