

# Clostridium perfringens. Recuento UNE EN ISO 7937:2005

Revisada y confirmada en 2015.

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Diluyente, véase ISO 6887-1,2,3,4:2004, o ISO 8261  
En Peptona Salina ISO:

**CM0733B** Maximum Recovery Diluent (Peptone Saline Diluent) ISO 500 g  
**TV5016D** Maximum Recovery Diluent ISO 50 x 9 ml

## Inoculación e incubación

1 ml de la dilución inicial o de la muestra si es líquida en placas Petri vacías por duplicado

Verter en cada placa 15 ml agar SC, rotar.  
Una vez solidificado, añadir otra capa de 10 ml de agar SC

**CM0587B** Perfringens Agar Base (ISO) 500 g +  
**SR0088E** Perfringens (TSC) Selective Supplement 10 viales

Incubar en anaerobiosis a 37°C durante 20 h ± 2 h  
**AN0025, AN0035A** Sobres de anaerobiosis

## Recuento y Selección de colonias

Se seleccionan placas con < 150 colonias y se cuentan las colonias características.  
Seleccionar 5 colonias características

## Confirmación mediante una de estas dos vías o galerías comerciales

Sembrar cada una de las cinco colonias en Tioglicolato  
**TV5001D Thioglycollate Medium USP 50 tubos**  
Incubar en anaerobiosis a 37°C durante 18 h - 24 h

Depositar 5 gotas sobre medio LS  
**4015792 Lactose Sulfite Medium ISO 500 g**  
Incubar en anaerobiosis a 46°C durante 18 h - 24 h

Examinar los tubos para:

- Producción de gas
- Precipitado de color negro
- Gas en la campana de Durham

Sembrar por picadura cada una de las colonias seleccionadas en Agar Movilidad desgasificado  
**4017262 Motility Nitrate CP Medium ISO 500 g**  
Incubar en anaerobiosis a 37°C durante 24 h

Examinar los tubos para:

- Movilidad desde la picadura
- Presencia de Nitrito con el reactivo de detección (5-2 ANSA) y aparición de color rojo

Sembrar las colonias seleccionadas en Agar Lactosa-Gelatina desgasificado  
**BO1068F Lactose Gelatin Medium 24x15 ml**  
Incubar en anaerobiosis a 37°C durante 24 h

Examinar los tubos para:

- Presencia de gas
- Color amarillo

Enfriar los tubos 1 h a 5 °C y comprobar la licuefacción de la gelatina

## Galerías de identificación RAPID ANA II

<b>R8311002</b>	<b>Galerías RAPID Ana II</b>	<b>20 galerías</b>
<b>R8325102</b>	<b>RAPID Inoculation fluid</b>	<b>20 viales</b>
<b>R8309002</b>	<b>RAPID Spot Indol Reagent</b>	<b>15 ml</b>
<b>R20413</b>	<b>McFarland Turbidity Estándar 3</b>	<b>Unidad</b>

