



Recuento de *Clostridium perfringens*, mediante técnica de recuento en placa. ISO 15213-2:2023.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Diluyente, véase ISO 6887.
Preparar series de diluciones decimales de la muestra si es líquida, o desde la suspensión inicial en el caso de otros productos.

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

Si se van a recontar solo esporas, calentar las diluciones decimales a 80°C durante 10 min ± 1 min.

Se toman dos placas de petri y se transfiere a cada una un 1 ml de la muestra si es líquida o 0,1 ml de la suspensión inicial en otros productos (dilución 10⁻¹).

En otra placa petri transferir un 1 ml de la dilución 10⁻¹ (productos líquidos) o 1 ml de la suspensión 10⁻² de otros productos.

Si fuera necesario, repetir el procedimiento con el resto de las diluciones utilizando una pipeta estéril por cada dilución.

Verter en cada placa 12-15 ml **agar TSC**, fundido y atemperado a 44°C - 47°C.
Mezclar el inóculo con el medio mediante agitación suave.
Una vez solidificado, añadir otra capa (*overlay*) de 5 ml de **agar TSC**

CM0587B Perfringens Agar Base (ISO) 500 g +
SR0088E Perfringens (TSC) Selective Supplement 10 viales
TV5204G Tryptose Sulfite Cycloserine Agar (TSC Agar) 50 tubos x 20 ml

Incubar en anaerobiosis a 37°C durante 20 h ± 2 h

AG025A Anaerobic Jar 2,5 l
AN0025 Sobres de anaerobiosis 2,5 l

Se seleccionan placas con < 150 colonias y se cuentan las colonias características.
Seleccionar 5 colonias características (negras, grises o amarillo-marrón)

Confirmación

Tomar cinco colonias sospechosas y sembrar cada colonia en una placa de agar sangre (Marcar en cada placa en que sector se siembra cada una).

PB5039A Agar sangre Columbia con sangre de carnero. 20 placas

Incubar las placas en anaerobiosis a 37°C durante 20 h ± 2 h.

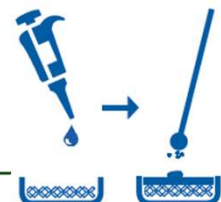
Seleccionar colonias bien aisladas para la confirmación, mediante el test de fosfatasa ácida, o Agar Sulfito Indol Movilidad (SIM Agar):

TN1519 Test de fosfatasa ácida (70 test)

CM0435B SIM Medium (500 g)

TV5014E SIM Medium (50 tubos) (+ Prod. Sulfito, - Indol, - Movilidad)

R21522 BactiDrop™ Indole, Kovacs (50 x 0,75 ml)



SISTEMAS AVANZADOS DE ANALISIS S.L.

Camino de Renedo 13. 47155 Santovenia de Pisuerga. Valladolid.

Tno: 983 355003 - Móvil: 670 779766

C.I.F.: B47700026

www.analisisavanzados.com