



Especificación

Suplemento selectivo estéril para el aislamiento diferencial de *Clostridium perfringens*.

Presentación

10 Viales liofilizados
Vial
con: 3 ± 0.1 g

Encajado

1 caja con 10 viales de vidrio de 23x60 mm, con tapón de plástico.
Etiquetados.

Caducidad

49 meses

Almacenamiento

2-25 °C

Composición

Composición (g/vial)

D-Cicloserina.....	0.2000
Polimixina B sulfato.....	0.0125
3-Indoxil- β -D-Glucopiranosido.....	0.0300
Phenolphthaleína bi-Phosphate.....	0.0500
Cloruro férrico.....	0.0450

Nota: cada vial es suficiente para suplementar 500ml de medio Base m-CP.

Reconstituir el liofilizado con:

Agua destilada estéril..... 10 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

El suplemento selectivo m-CP es una mezcla de sustratos cromogénicos y antibióticos, que se añade al medio base m-CP con el fin de obtener un medio selectivo para la identificación presuntiva de *Clostridium perfringens* procedentes de muestras de agua, por el método de Filtración a través de Membrana (MF).

La actividad de la β -D-glucosidasa (una enzima implicada en la fermentación celobiosa), la fermentación de la sacarosa y la producción de fosfatasa ácida se utilizan para diferenciar presuntivas colonias de *Clostridium perfringens* de otras especies de *Clostridium*.

La falta de actividad β -D-glucosidasa significa que *Clostridium perfringens* no utiliza el cromógeno, β -D-indoxil glucósido en el medio. Además, como los organismos fermentar la sacarosa en el medio, hay un descenso de pH en el medio virando el púrpura de bromocresol a amarillo. *Clostridium perfringens* da colonias opacas de color amarillento.

Otras especies de *Clostridium* aparecerán como colonias púrpura, debido a la carencia de la fermentación de sacarosa, o colonias azules / verdes.

Los antibióticos D-cicloserina y la polimixina B junto con una incubación a 44 °C inhiben el crecimiento de la flora acompañante Gram-negativa y los estafilococos (gram-positivos).

m-CP Medio ha sido recomendado en el Consejo Europeo por la Directiva 98/83/CE, para probar la calidad de las aguas destinadas al consumo humano.

Técnica:

Recoger, diluir y preparar muestras y volúmenes según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directivas, reglamentos oficiales y / o resultados esperados.

Reconstituir el vial con 10 ml de diluyente estéril en condiciones asépticas, agitar unos segundos y agregarlo a 500 ml de la base de medio a 50 °C.

No caliente una vez completados.

Verter el medio completo en placas de Petri y, una vez solidificada sobre una superficie plana, se inoculan con una membrana de 0,45 mm de poro con el cual se filtró la muestra.

Incubar las placas en condiciones anaerobias a 44 °C durante 20-24h.

Los tiempos de incubación más largos que las temperaturas de incubación antes mencionados o diferentes pueden ser necesarias dependiendo de la muestra, o normativas seguidas.

Cada laboratorio debe evaluar los resultados de acuerdo a sus especificaciones.

Las colonias presuntivas de *Clostridium perfringens* se han de someter a la exposición de vapor de hidróxido de amonio durante 20 a 30 segundos. Las colonias de *Clostridium perfringens* se vuelven de color rosa o rojo ya que el difosfato de fenolftaleína se transforma por la fosfatasa ácida. El resto de microorganismos mantienen el color inicial.



Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Rojo

pH: a 25°C

Control de Fertilidad

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

Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad) /10⁴-10⁶ (Selectividad)

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

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

Microorganismo

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

Clostridium perfringens ATCC® 10543, WDCM 00174

Clostridium bifermentans NCTC® 506

Escherichia coli ATCC® 8739, WDCM 00012

Desarrollo

Bueno -colonias amarillas opacas

Bueno -colonias amarillas opacas

Bueno -Colonias azules

Inhibido

Control de Esterilidad

Añadir 5 ml de muestra a:

Bibliografía

· European Council (1997) Directive 12767/97 on the quality of water destined for human consumption. EC Bull. 16-12-1997.

· ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.