

TSC AGAR (BASE)

AGAR TRIPTONA-SULFITO-CICLOSERINA Y MUP

Detección y recuento de *Clostridium perfringens* (UNE EN 13401:2000, UNE-EN 26461-2:1995, ISO/CD 6461-2:2002)

COMPOSICIÓN

Triptosa	15.00 g
Peptona papaínica de soja	5.0 g
Extracto de levadura	5.0 g
Citrato férrico amoniacal	1.0 g
Metabisulfito sódico	1.0 g
Agar-agar	18.0 g
(Fórmula por litro)	
pH final:	7.6 ± 0.2



Clostridium perfringens en TSC. Abajo, en TSC con MUP

PREPARACIÓN

Disolver 45 g de medio en 1 l de agua bidestilada. Calentar, agitando, hasta ebullición, para su total homogeneización. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos o mejor a 116 °C, 15 minutos. El color final del medio es crema. Enfriar a 50 °C y añadir aseptícamente 400 mg de D- Cicloserina estéril (4 viales de 100 mg de SMS252). Verter de inmediato en placas y no recalentar. Utilizar de inmediato a su preparación para evitar la letal oxigenación.

NOTA 1: Para mejorar el desarrollo de colonias negras de Clostridios, añada 1 vial del suplemento estéril VMT136 a cada 100-1000 ml de medio estéril, hervido para desoxigenarlo y una vez enfriado a 45-50 °C.

NOTA 2: Para seguir la próxima Norma ISO, puede añadir también a cada 500 ml de medio enfriado a 50°C, 55-100 mg de suplemento **MUP** (Metil-Umbeliferil Fosfato, Ref: MICROKIT SMT009), que reacciona con las colonias de *Cl.perfringens* emitiendo fluorescencia azul bajo luz UVA



de 366 nm (linterna MICROKIT VMT050).

PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO. AGITE EL BOTE ANTES DE USAR. DESHIDRATADO CODIGO: [DMT175](#)

CONTROL DE CALIDAD DEL MEDIO

Realizado en nuestro laboratorio; es prudente repetirlo en su laboratorio siempre que varíen las condiciones (más de 3 meses sin usar, tras desinfectar laboratorio, tras conservar a alta T^a, cuando adquiere aspectos extraños aunque no haya llegado la fecha de caducidad teórica de la etiqueta,...)

DESHIDRATADO: Polvo grueso, Amarillo PREPARADO: Estéril, Beige

EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO [ISO/TS 11133-2](#) 20-48 h a 37-44 °C en anaerobiosis, aplicando el método ISO 7937 ó ISO/CD 6461-2: 2002 o el indicado en el Manual MICROKIT actualizado:

Clostridium perfringens MKTA 13124, Colonias negras, pardas o grises, blancas si la anaerobiosis no es correcta. Fluorescentes bajo luz UVA de 366 nm si se añadió MUP. [PR > 0,7](#) respecto al número de ufc certificadas e inoculadas en otro lote validado de TSC. Con respecto a PCA estandarizado*, recuento 75-252%, pero de forma más selectiva y diferencial; esta variabilidad de la productividad depende de la composición y carga de la flora acompañante inoculada.

E.coli MKTA 25922, Inhibición completa: [Ni una sola colonia](#). O a lo sumo inhibido con colonias blancas.

Bacillus subtilis MKTA 6633, Inhibido.

Staphylococcus aureus MKTA 6538P, Inhibido, a lo sumo colonias blancas.

*El que cumple con recuperación superior al 92-125 % con respecto a cepas cuantitativas trazables a la cepa tipo. Las colecciones TIPO prohíben el uso de su referencia por lo que indicamos la nuestra, directamente trazable a la colección TIPO.

PRESENTACIÓN: MEDIO DESHIDRATADO (BASE) y SUPLEMENTO. También hay **tubos preparados, PLACAS MF 90mm con MUP y frascotes 200 ml parafinados** para recuento en 100 ml de muestra). **En versión líquida, viales MF y viales pinchables. Y suplemento MUP en polvo.**

MODO DE EMPLEO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Modificación del TSN más selectiva y con menor difusión del ennegrecimiento. Sembrar en superficie 0'1 ml de muestra y su serie de diluciones decimales, añadiendo una segunda capa de medio. O bien sembrar en profundidad 1 ml incluso en tubo o 100 ml en frascote parafinado, fundidos en agua hirviendo y atemperados a 45-47°C justo antes de solidificar. Incubar 18-20 horas a 44-46 °C aproximadamente, en anaerobiosis (no hace falta en

tubos ni frascos) y contar como *Clostridium perfringens* toda colonia negra. Las colonias blancas o grises son presuntivas si la anaerobiosis no es correcta. Para recuento en aguas, según UNE-EN 26461-2, calentar la muestra 15 minutos a 70-80 °C. Filtrar 100 ml de agua a través de 0,22 µm (VAC022). Añadir en la placa Petri y verter 18 ml del medio enfriado a 50 °C (y si se desea, preparado a doble concentración), sin que se formen burbujas. Para siembra directa sin filtración, de aguas cloradas, añadir 0,6 g de Tiosulfato sódico para inactivar el cloro. Incubar 16-24 h y 40-48 horas a 36-38 °C aproximadamente o, más selectivamente, a 43-45°C aproximadamente (es más rápido que el SPS), en anaerobiosis si no se ha quedado la membrana en profundidad. Si se añadió MUP, contar sólo las colonias negras (o grises-blancas si no se incubó en atmosfera anaerobia sino en masa con doble capa) que emitan fluorescencia azul bajo luz UVA de 366 nm.

El usuario final es el único responsable de eliminar los microorganismos de acuerdo con la legislación medioambiental vigente. Autoclavar antes de desechar a la basura.

Diseñado desde 1998, el MUP desde Octubre de 2010. Revisado el 26-Marzo, 2012