

Agar Sulfito de Hierro ISO

Cat. 1559

Para la enumeración de bacterias reductoras de sulfito que crecen en condiciones anaeróbicas.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Recuento selectivo	Bacterias reductoras de sulfito

Industria: Alimentación

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 15213

Principios y usos

Agar Sulfito de Hierro está recomendado por la norma ISO 15213 para la enumeración de bacterias reductoras de sulfito y por la ISO 6461 para la detección y enumeración de esporas de bacterias anaerobias sulfito reductoras (*Clostridium*).

El digerido enzimático de caseína y peptona de soja proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El extracto de levadura es fuente de vitaminas, particularmente del grupo B, esencial para el crecimiento bacteriano. El citrato férrico y el disulfito de sodio son indicadores de H₂S. *Clostridium perfringens* reduce el sulfito a sulfuro, que a su vez reacciona con el hierro y forma un precipitado de sulfuro de hierro negro, visto como colonias negras. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Fórmula en g/L

Digerido enzimático de caseína	15	Agar bacteriológico	13,5
Citrato de amonio férrico	1	Peptona de soja	5
Extracto de levadura	5	Disulfito sódico	1

Preparación

Suspender 40,5 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor agitación frecuente. Hervir durante un minuto. Distribuir en frascos y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Instrucciones de uso

Enumeración de bacterias sulfito-reductoras que crecen en condiciones anaeróbicas de acuerdo a ISO 15213:

- Emplear placas o tubos para preparar el medio Agar Sulfito de Hierro.
- Si se utiliza en placas, transferir a cada una 1 ml de la primera dilución decimal (10⁻¹) de la muestra de prueba si el producto es líquido, o 1 ml de la primera dilución decimal de la suspensión inicial (10⁻²) en el caso de otros productos.
- Verter en cada placa de Petri aproximadamente 15 ml de Agar Hierro Sulfito.
- Mezclar cuidadosamente y dejar que el medio solidifique.
- Después de que el medio se haya solidificado, verter 5 ml a 10 ml del mismo medio en la placa como una capa superpuesta.
- Si se usan tubos, inocular 1 ml de cada dilución en cada uno de los dos tubos de medio.
- Mezclar suavemente y dejar que el medio solidifique.
- Después de que el medio se haya solidificado, verter de 2 a 3 ml del mismo medio en cada tubo como una capa superpuesta.
- Incubar las placas o tubos en jarras anaeróbicas a 37±1 °C durante 24-48 horas.
- Si se sospecha de bacterias termófilas, incubar a 50±1 °C.

Detección y enumeración de las esporas de anaerobios reductores de sulfito (*clostridios*) mediante el método de filtración de membrana según ISO 6461:

- Aplicar calor a la muestra durante un período de tiempo suficiente para destruir las bacterias vegetativas (75±5 °C durante 15 minutos).
- Filtrar la muestra de agua a través de un filtro de membrana.
- Colocar el filtro en el Agar Sulfito de Hierro.
- Incubar a 37±1 °C durante 20±4 h y 44± 4 horas en condiciones anaeróbicas.
- Contar todas las colonias negras.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar, ligeramente opalescente	7,6 ± 0,2

Test microbiológico

De acuerdo con ISO 11133:

Condiciones de incubación: Productividad cuantitativa (37±1 °C / 24±3-48±2 h) / Productividad cualitativa (37±1 °C / 24±3-48 ±2 h) / Especificidad (37±1 °C / 24±3-48±2 h). Atmósfera anaeróbica.

Condiciones de inoculación: Productividad cuantitativa (100±20. Min. 50 CFU) / Especificidad (10³-10⁴ CFU)

Medios de referencia: TSA

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Clostridium perfringens ATCC 12916	Buen crecimiento, >50%	Colonias de color negro
Clostridium perfringens ATCC 13124	Buen crecimiento, >50%	Colonias de color negro
Escherichia coli ATCC 25922	Crecimiento	Ausencia de ennegrecimiento

Almacenamiento

Temp. Min.:2 °C

Temp. Max.:25 °C

Bibliografía

ISO 15213. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions