

**Especificación**

Medio sólido diferencial para la enumeración de bacterias anaerobias sulfito reductoras en alimentos y piensos de acuerdo a la norma ISO 15213:2003.

Fórmula * en g/L

Triptona.....	15,00
Peptona de soja.....	5,00
Extracto de levadura.....	5,00
Disulfito di-sódico (Na ₂ S ₂ O ₅).....	1,00
Citrato férrico amónico.....	1,00
Agar.....	15,00

pH final a 25°C, 7,6 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Suspender 42 g del polvo en 1 L de agua destilada y llevar a ebullición. Distribuir en contenedores adecuados y esterilizar al autoclave, a 121°C durante 15 minutos. Si el medio no se utiliza el mismo día de su preparación deberá desairearse inmediatamente antes de su uso.

Descripción

Esta modificación del Agar de Hierro y sulfito se ha formulado de acuerdo a la norma ISO 15213:2003 que describe un método horizontal para la enumeración de bacterias sulfito reductoras capaces de crecer en condiciones anaeróbicas. De acuerdo a esa normativa, el método es de aplicación en alimentos, piensos e incluso en muestras ambientales de las zonas de producción de alimentos.

En la norma 95:1997 del *Nordisk Metodikkommitté för Livsmedel* (NMKL), este medio se utiliza en la prueba presuntiva de presencia de clostridios, como paso previo a los ensayos de confirmación. En la norma ISO también se especifica que el método es aplicable para clostridios sólo si después del aislamiento en este medio de cultivo se lleva a cabo el estudio confirmativo de las colonias negras.

Técnica

A partir de un banco de diluciones decimales se transfieren por duplicado alícuotas a placas de Petri estériles. En cada placa inoculada, se vierten 15 mL de Agar de Hierro Sulfito Modificado, fundido, desaireado y enfriado a 44-47°C. Se mezclan cuidadosamente el inóculo con el medio y se deja solidificar. Sobre el medio sólido ya, se vierten otros 10 mL del mismo medio como capa de sellado. El tiempo transcurrido entre la distribución del inóculo a las placas y la adición del medio fundido no debe ser superior a los 15 minutos.

Las placas Petri inoculadas se incuban en condiciones anaeróbicas a 37 ± 1°C durante 24-48 horas. Si se sospecha la presencia de bacterias termófilas, hay que incubar un segundo lote de placas a 50 ± 1°C durante 24-48 horas.

Las colonias negras, probablemente rodeadas de un halo negro se consideran bacterias reductoras de sulfato, presuntamente clostridios. Su identidad deberá ser confirmada con pruebas bioquímicas y serológicas adecuadas.

Control de calidad**Temperatura de incubación:** 35°C ±2,0**Tiempo de incubación :** 24-48 h**Inóculo:** 10-100 UFC (Productividad) // 1.000-10.000 UFC (Selectividad). Método de recuento en placa con siembra en espiral.
Condiciones anaeróbicas**Microorganismo***Staphylococcus aureus* ATCC 25923*Escherichia coli* ATCC 25922*Clostridium sporogenes* ATCC 11437*Clostridium perfringens* ATCC 10543*Clostridium perfringens* ATCC 13124**Crecimiento**

Inhibido a pobre

Inhibido a pobre

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Productividad > 0.70

Observaciones

a 50°C

a 50°C

Colonia negra

Colonia negra

Colonia negra



Izqda.: Tubo sin inocular (Control)
Centro: *Clostridium perfringens* ATCC 13124
Dcha.: *Clostridium perfringens* ATCC 10543

Bibliografía

- ISO 15213:2003 Standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions.
- NMKL Standard 95 (1997) Sulfite-reducing Clostridia: Determination in food.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco (entre 4°C y 30°C, con humedad relativa menor del 60%).