

TÀI LIỆU KỸ THUẬT

LACTOSE-SULFITE (LS) BROTH

KHÁNG ĐỊNH *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

1 MỤC ĐÍCH

Môi trường Lactose-Sulfite broth là môi trường kháng định cho phép phát hiện có chọn lọc bào sinh dưỡng và bào tử của *Clostridium perfringens* trong thực phẩm và mẫu sinh học có nguồn gốc động vật mà không cần các xét nghiệm xác nhận thông thường.

Thành phần đáp ứng theo tiêu chuẩn NF EN ISO 7937, định lượng *Clostridium perfringens* trong vi sinh thực phẩm.

2 LỊCH SỬ

Beerens và cộng sự đã sử dụng công trình trước đây của Put (1961) liên quan đến độ nhạy của *Clostridium* với sulfit, sự phát triển tối ưu của *Clostridium perfringens* ở 46 ° C, cũng như khả năng lên men lactose của nó. Năm 1982, họ đã xây dựng và phát triển thành công canh thang LS. Đặc biệt, khuyến nghị sử dụng nó để phát hiện một lượng nhỏ *Clostridium perfringens* trong thực phẩm.

3 NGUYÊN TẮC

Tính đặc trưng của môi trường đối với *Clostridium perfringens* chủ yếu là do vi sinh vật này kháng sulfit và khả năng lên men lactose sinh khí của nó.

Nồng độ metabisulfite ức chế sự phát triển của phần lớn các clostridia không phải là *Clostridium perfringens*.

Ở 46 ° C đảm bảo sự phát triển của *Clostridium perfringens*, nó làm giảm natri metabisulfit thành sulfide, phản ứng với Ferric ammonium citrate tạo thành kết tủa sắt sulfide màu đen lắng xuống đáy ống canh thang.

4 THÀNH PHẦN

Thành phần có thể được điều chỉnh để đạt hiệu suất tối ưu.

Trong 1 lít môi trường:

- Tryptone	4.44 g
- Yeast extract	2.22 g
- L-Cysteine hydrochloride	0.27 g
- Lactose.....	8.89 g
- Sodium chloride.....	2.22 g
- Sodium metabisulfite	0.67 g
- Ferric ammonium citrate.....	0.56 g

pH của môi trường hoàn chỉnh 25 °C: 7,1 ± 0,2.

5 CHUẨN BỊ

Sử dụng môi trường bột khô:

- Pha 19,3 g môi trường bột khô (BK140) vào 1 lít nước cất vô trùng hoặc nước khử ion.
- Đun nhẹ từ từ cho đến sôi, khuấy nhẹ cho đến khi tan hoàn toàn.
- Phân phối 9 mL vào các ống có kích thước thích hợp chứa một ống Durham.
- Khử trùng trong nồi hấp ở 121 ° C trong 15 phút.
- Làm nguội đến nhiệt độ phòng.

✓ **Pha:**
19.3 g/L

✓ **Hấp khử trùng:**
15 min at 121 °C

Sử dụng môi trường pha sẵn:

- Trước khi sử dụng, tái tạo môi trường bằng cách làm nóng các ống trong 10 phút ở 100 ° C.
- Để nguội đến nhiệt độ phòng.

6 HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

- Cấy lại 5 khuẩn lạc đen từ thạch TSC vào các ống môi trường Thioglycollate with Resazurin (BK017, BM082).
- Ủ các ống trong điều kiện yếm khí từ 18 - 24 h tại 37 ° C.
- Cấy 5 giọt dịch cấy thu được trong các ống Thioglycollate vào mỗi ống canh thang LS đã chuẩn bị như mô tả.
- Loại bỏ không khí trong các ống Durham bằng cách lật ngược các ống.
- Ủ tại 46 ° C trong 18 - 24 h trong bể điều nhiệt tuần hoàn.

✓ **Cấy:**
5 giọt

✓ **Ủ:**
18 - 24 h tại 46 °C

7 KẾT QUẢ

Kiểm tra xem nắp có bị vặn nhẹ trước khi đọc kết quả hay không.

Quá trình lên men lactose được biểu thị bằng sự có mặt của khí trong các ống Durham (thể tích tối thiểu bằng ¼ ống Durham) trong 24 giờ, và xuất hiện kết tủa sắt sunfua màu đen trong các ống nuôi cấy chứng tỏ sự hiện diện của *Clostridium perfringens*.

Lưu ý: Đối với môi trường sử dụng sẵn trong ống, màu của kết tủa sắt sunfua có thể từ xám đến đen

Xem PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH .

8 QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG

Môi trường bột khô: bột kem, chảy tự do và đồng nhất.

Môi trường hoàn chỉnh: dung dịch hồ phách.

Phản ứng nuôi cấy điển hình sau 24 giờ ủ tại 46 °C:

Vi sinh vật		Phát triển	Sinh khí	Làm đen môi trường
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	Tốt, score 2	Dương tính	Dương tính
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00080	Tốt, score 2	Dương tính	Dương tính
<i>Clostridium bifermantans</i>	ATCC® 19299	Yếu, score 1	Âm tính	Dương tính

9 BẢO QUẢN/ HẠN SỬ DỤNG

Môi trường bột khô: 2-30 °C.

Môi trường pha sẵn: 2-8°C, tránh ánh sáng

Hạn sử dụng được ghi trên nhãn.

Môi trường đã pha trong ống nghiệm(*) : sử dụng trong cùng ngày pha.

(*) Giá trị chuẩn được xác định trong các điều kiện chuẩn bị tiêu chuẩn, theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

10 ĐÓNG GÓI

Môi trường bột khô:

Chai 500 g.....BK140HA

Môi trường pha sẵn trong ống nghiệm:

7 ống x 9 mL kèm ống Durham BM19208

11 TÀI LIỆU THAM KHẢO

Beerens, H., Romond, C.H., Lepage, C., and Criquelion, J. 1982. A Liquid Medium for the Enumeration of *Clostridium perfringens* in Food and Faeces. Isolation and Identification Methods for Foods Poisoning Organisms. Edited by Academic Press London, 137-149.

NF EN ISO 7937. Février 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens*. Technique par comptage des colonies.

12 THÔNG TIN BỔ SUNG

Thông tin trên bao bì có giá trị hơn các công thức, hướng dẫn mô tả trong tài liệu này và có thể sửa đổi bất cứ lúc nào mà không cần thông báo.

Mã tài liệu : LACTOSE SULFITE BROTH_ENv8
Ngày tạo : 01-2004
Ngày cập nhật : 06-2018
Lý do cập nhật : Chính sửa phần kết quả.

PHỤ LỤC 1: HÌNH ẢNH

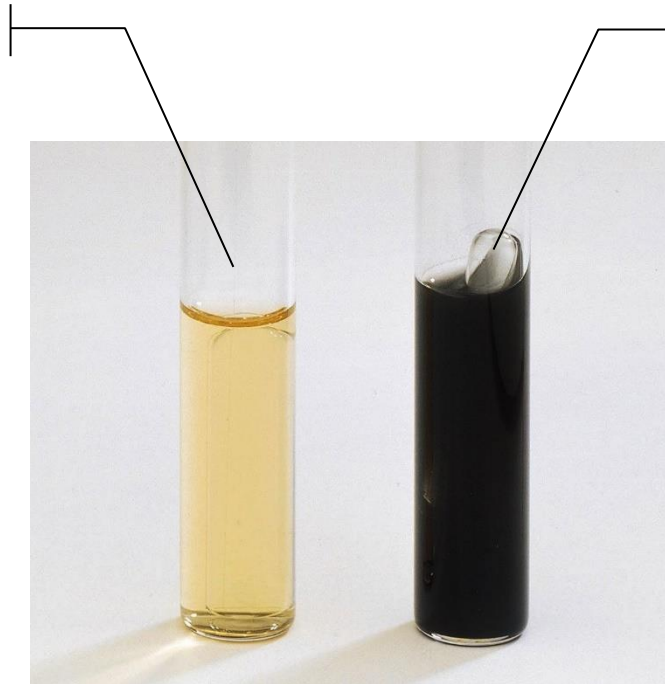
Lactose-Sulfite (LS) BROTH

Phát hiện và khẳng định *Clostridium perfringens*.

Kết quả:

Phát triển sau 24 h ủ tại 46 °C.

Mẫu âm tính



Mẫu dương tính

Đặc điểm : Làm đen môi trường, có khí trong ống Durham