

Laurylsulfátový bujón (Lauryl Tryptose Broth LTB) ISO

LC1310

Pro detekci koliformních bakterií ve vodách.

Praktické informace

Aplikace	Kategorie
Selektivní výčet	Koliformní bakterie
Selektivní výčet	<i>Escherichia coli</i>
Detekce	Koliformní bakterie
Detekce	<i>Escherichia coli</i>

Odvětví aplikace: Potravinářství / Zpracování mléka

Předpisy: ISO 11133 / ISO 4831 / ISO 7251

Principy a použití

Laurylsulfátový bujón (Lauryl Sulfate Broth), známý též jako lauryltryptózový bujón (Lauryl Tryptose Broth - LTB) je selektivní médium doporučené APHA pro stanovení počtu koliformních bakterií ve vodě (pitné i odpadní) a mléčných výrobcích a pro potvrzující test laktóзовé fermentace s produkcí plynu u vzorků mléka a pro detekci koliformních bakterií v potravinách. Další výhodou tohoto média je, že indolový test lze provádět přímo ve zkumavce.

Bujón byl vyvinut tak, aby podporoval bohatý růst a vysokou produkci plynu z malých inokul koliformních organismů.

Doporučen normou ISO 4831 a ISO 7251.

Skupina koliformních bakterií je aerobní i anaerobní, gramnegativní, netvoří spory a fermentuje laktózu za vzniku kyseliny a plynu při 35 °C do 48 hodin.

Tryptóza v 2% koncentraci zlepšuje časovou fázi růstu koliformních bakterií ve srovnání s kaseinovým peptonem. Pufrovaný bujón umožňuje pomalým fermentorům laktózu zvýšit produkci plynu v kratším čase. Tryptóza poskytuje dusík, vitamíny, minerály a aminokyseliny nezbytné pro růst. Laktóza je fermentovatelný komplexní sacharidový zdroj energie. Fosforečnany draselné jsou pufrovací látky a chlorid sodný dodává základní elektrolyty pro transport a osmotickou rovnováhu. Laurylsíran sodný je selektivní činidlo používané k inhibici jiných organismů než koliformních bakterií. Sporující aerobní bakterie jsou zcela inhibovány.

Složení

Laktóza	5	Dihydrogenfosforečnan draselný	2,75
Chlorid sodný	5	Laurylsulfát sodný	0,1
Enzymatické trávení rostlin a živočišných tkání	20	Hydrogenfosforečnan draselný	2,75

Příprava

Suspendujte 35,6 g média v jednom litru destilované vody. Dobře promíchejte a rozpouštějte zahříváním za častého míchání. Vařte po dobu jedné minuty až do úplného rozpuštění. Dávkujte do zkumavek se sběrnými trubičkami Durhamova plynu pro detekci plynu. Sterilizujte v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Návod k použití

Pro detekci a stanovení počtu koliformních bakterií podle normy ISO 4831:

- Naočkejte zkumavky se selektivním obohacovacím bujónem (Lauryl Tryptose Broth LC1310) testovanou částí.
- Pro inokulum o objemu 1 ml nebo méně použijte jednosložkové LTB médium.
- Pro inokulum o objemu 10 ml nebo více použijte LTB médium o dvojnásobné síle.
- Inkubujte při teplotě 30 °C nebo 37 °C (podle dohody) po dobu 24 h (dvojnásobně silné médium) nebo po dobu 24 h a dalších 24 h, pokud v této fázi není pozorována tvorba plynu ani neprůhlednost bránící detekci tvorby plynu (jednosilné médium).
- Z inkubovaných zkumavek s dvojnásobně silným LTB a z inkubovaných zkumavek vykazujících tvorbu plynu nebo neprůhlednost jednosilného LTB naočkejte zkumavku s dvojnásobně silným LTB.

konfirmační médium (Brilliant Green Bile Broth 2% LC1228) a pozorujte po 24 nebo 48 hodinách.

- Trubice s tvorbou plynu je pozitivní trubice.

- Spočítejte celkový počet pozitivních zkumavek.

Pro detekci a stanovení počtu předpokládaných *E. coli* podle normy ISO 7251:

- Počáteční suspenzí naočkujte zkumavky se selektivním obohacovacím bujónem (Lauryl Tryptose Broth LC1310).

- Pro inokulum o objemu 1 ml nebo méně použijte jednosložkové LTB médium.

- Pro inokulum o objemu 10 ml nebo více použijte LTB médium o dvojnásobné síle.

- Inkubujte zkumavky s LTB při teplotě 37 °C po dobu až 48 h a po 24 h a 48 h zkontrolujte produkci plynu.

- Každá zkumavka s dvojsilným LTB, u kterého došlo k zákalu, zakalení nebo plynné emisi, a každá zkumavka s jednosilným LTB, u kterého došlo k plynné emisi, se subkultivuje do zkumavky obsahující EC bujón (LC1522).

- Inkubujte zkumavky s Ec Broth při 44 °C po dobu až 48 h a po 24 h a 48 h zkontrolujte produkci plynu.

- Každá zkumavka s bujónem EC, který vyzařuje plynné látky, se subkultivuje do zkumavky obsahující peptonovou vodu bez indolu (LC1403) a inkubuje se při 44 °C po dobu 48 hodin.

- Zkumavky, které vykazují zákal nebo produkci plynu v LTB a jejichž subkultury produkovaly plyn v bujónu EC a indol v peptonové vodě, se považují za pozitivní zkumavky obsahující presumptivní *E. coli*.

- Spočítejte celkový počet *E. coli* metodou MPN.

Kontrola kvality

Rozpustnost	Vzhled	Barva dehydratovaného média	Barva připraveného média	Konečné pH (25°C)
bez zbytků	Jemný prášek	Bledě béžová	Čirá jantarová	6,8 ± 0,2

Mikrobiologický test

Podle normy ISO 11133:

- Pro detekci koliformních bakterií ISO 4831:

Inkubační podmínky: Produktivita, selektivita (24±2 h až 48±2 h) / 30±1 °C). Podmínky

očkování: Produktivita kvalitativní (<100 CFU) / selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

- Pro detekci *E. coli* ISO 7251:

Inkubační podmínky: Produktivita, selektivita (24±2 h až 48±2 h) / 37±1 °C). Podmínky

očkování: Produktivita kvalitativní (<100 CFU) / selektivita (10⁴-10⁶ CFU).

Mikroorganismy	Specifikace	Charakteristická reakce
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Žádný růst	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Zákal (2) a plyn v Durhamově trubici	Produkce plynu a zákal
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Žádný růst	
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 43864	Zákal (2) a plyn v Durhamově trubici	Produkce plynu a zákal
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Zákal (2) a plyn v Durhamově trubici	Produkce plynu a zákal

Skladování

Teplota Min.: 2 °C

Teplota Max.: 25 °C

Bibliografie

ISO 4831 Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda detekce a stanovení počtu koliformních bakterií - Technika nejpravděpodobnějšího čísla APHA 1998. Standardní metody pro vyšetřování vody a odpadních vod, 20. vydání.

Asociace oficiálních analytických chemiků. 1995. Bakteriologická analytická příručka, 8. vydání. AOAC International, Gaithersburg, MD. Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official methods of analysis of AOAC International, 16. vyd. AOAC International, Arlington, VA.

ISO 7251 Mikrobiologie potravin a krmiv - horizontální metoda detekce a stanovení počtu presumptivních *Escherichia coli* - technika nejpravděpodobnějšího počtu.