
BOUILLON LACTOSE-SULFITE (LS)

CONFIRMATION DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

1 DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon Lactose Sulfite (LS) est un milieu de confirmation permettant de détecter sélectivement la présence de formes végétatives ou de spores de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires et les prélèvements biologiques d'origine animale, sans qu'il soit nécessaire de purifier les colonies dénombrées sur boîte.

La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 7937, pour le dénombrement de *Clostridium perfringens* en microbiologie des aliments.

2 HISTORIQUE

Utilisant les travaux antérieurs de Put (1961), relatifs à l'étude de la sensibilité des *Clostridium* au sulfite, la croissance optimale de *Clostridium perfringens* à 46 °C ainsi que sa capacité à fermenter le lactose, Beerens *et al.* en 1982, ont formulé et développé avec succès le milieu LS. Ils ont particulièrement recommandé son utilisation pour la détection des faibles quantités de *Clostridium perfringens* dans les produits alimentaires fortement contaminés par d'autres bactéries sulfito-réductrices.

3 PRINCIPES

La spécificité du milieu vis à vis de *Clostridium perfringens* est due principalement à la capacité de ce microorganisme à résister aux sulfites et à fermenter le lactose en produisant du gaz.

La concentration en métabisulfite inhibe le développement de la plupart des clostridies autres que *Clostridium perfringens*.

L'incubation à 46 °C assure la culture spécifique de *Clostridium perfringens* qui réduit le métabisulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique, un précipité noir de sulfure de fer qui se dépose au fond du tube.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	4,44 g
- Extrait autolytique de levure.....	2,22 g
- Chlorhydrate de L-cystéine	0,27 g
- Lactose.....	8,89 g
- Chlorure de sodium.....	2,22 g
- Métabisulfite de sodium	0,67 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	0,56 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,1 ± 0,2.

5 PREPARATION

A partir du milieu déshydraté

- Mettre en solution 19,3 g de milieu déshydraté (BK140) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes contenant une cloche de Durham, à raison de 9 mL par tube.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- Refroidir à température ambiante.

✓ **Reconstitution :**
19,3 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

A partir du bouillon prêt-à-l'emploi

- Avant utilisation, régénérer les tubes en les portant 10 minutes à 100°C.
- Refroidir à température ambiante.

6 MODE D'EMPLOI

- Repiquer 5 colonies noires observées sur gélose TSC dans un bouillon au thioglycolate avec résazurine (BK017, BM082).
- Incuber les tubes en anaérobiose pendant 18 à 24 heures à 37 °C.
- Ensemencer 5 gouttes de la culture obtenue dans chaque tube de bouillon LS ainsi préparé.
- Retirer l'air dans les cloches de Durham, par retournement des tubes.
- Incuber à 46 °C pendant 18 à 24 heures dans un bain d'eau thermostaté.

✓ **Ensemencement :**
5 gouttes d'inoculum

✓ **Incubation :**
18 à 24 h à 46 °C

7 LECTURE

Vérifier que les bouchons soient légèrement desserrés avant de procéder à la lecture.

La présence de gaz (supérieure au ¼ du volume de la cloche) et la présence simultanée d'un précipité noir de sulfure de fer dans les tubes confirment la présence de *Clostridium perfringens*.

Note : Dans le cas du bouillon prêt-à-l'emploi en tubes, le précipité de sulfite de fer peut être de noir à gris.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.

Milieu préparé : solution ambrée, limpide.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 46 °C

Microorganismes		Croissance	Production de gaz	Noircissement
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	Bonne, score 2	Positive	Positif
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00080	Bonne, score 2	Positive	Positif
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC® 19404	Faible, score 1	Négative	Possible

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu prêt-à-l'emploi : 2-8°C, à l'abri de la lumière.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en tubes (*) : utiliser le jour même de la préparation.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK140HA

Milieu prêt-à-l'emploi :

Sachet de 7 tubes, avec cloche de Durham BM19208

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BOUILLON LACTOSE SULFITE_FR_V10
Date création : 01-2004
Date de révision : 01-2022
Motif de révision : Mise à jour du paragraphe Contrôle qualité

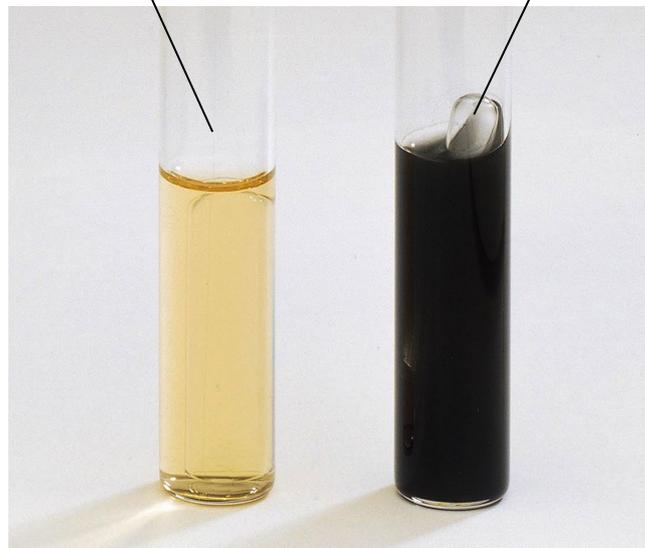
Bouillon Lactose-Sulfite (LS)

Détection et confirmation de *Clostridium perfringens*.

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 46 °C.

Témoin négatif



Echantillon positif

Caractéristiques :
Noircissement du milieu et
présence de gaz dans les
cloches de Durham.