



## Lactose Sulfite Broth

Liquid medium for detection of  
*C. perfringens*, according to EP and ISO 7937.

### DESCRIPTION

Lactose Sulfite (LS) Broth is a liquid medium used for confirmation of *Clostridium perfringens* in food and pharmaceutical products.

This medium complies with the recommendations of the European Pharmacopoeia (EP) and ISO 7937.

### TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Enzymatic Digest of Casein	5.0
Yeast Extract	2.5
Sodium Chloride	2.5
Lactose	10.0
L-Cysteine Hydrochloride	0.3
Disodium Disulfite, Anhydrous	0.75
Ammonium Iron(III) Citrate	0.625
Final pH 7.1 ± 0.2 at 25°C	

### METHOD PRINCIPLE

Enzymatic digest of casein provides amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Yeast extract is a source of vitamins, particularly of B-group. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Lactose is the fermentable carbohydrate. Cysteine is included to reduce the redox potential of the medium and create an anaerobic atmosphere. Sodium metabisulfite reacts with ferric ammonium citrate in the presence of hydrogen sulfide forming a black precipitate.

### PREPARATION

**Dehydrated medium** Suspend 21.7 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Dispense 9 ml portions into test tubes with inverted Durham tubes. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.

### TEST PROCEDURE

According to ISO 7937, inoculate each black colony from Tryptose Sulfite Cycloserine Agar (ref. 163872) into a tube of Fluid Thioglycollate Medium (ref. 24124). Incubate at 37 ± 1°C for 18-24 hours. Subsequently, transfer 5 drops of the enrichment culture into a tube of Lactose Sulfite Broth and incubate aerobically at 46°C for 18-24 hours.

The European Pharmacopoeia recommends to dilute samples 1:100 or 1:1000 with Buffered Peptone Water (ref. 24099). Inoculate Lactose Sulfite Broth and incubate at 46 ± 0.5°C for 24-48 hours to determine the most probable number of bacteria (MPN).

### INTERPRETING RESULTS

Tubes of Lactose Sulfite Broth containing Durham tubes more than one-quarter full of gas and having a black precipitate are considered positive for *Clostridium perfringens*. Estimate the MPN by using the appropriate table.

### APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, beige.  
Prepared medium: clear, amber.

### STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store tubes at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

### SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.  
Medium in tubes: 1 year.

**QUALITY CONTROL**

The medium is inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity:  $\leq 100$  CFU.

Incubation conditions: aerobically at  $46 \pm 0.5^\circ\text{C}$  for 18-48 h.

**QC Table.**

Microorganism		Gas production	Blackening
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC® 13124	+	+
<i>Clostridium bifermentans</i>	ATCC® 19299	-	+

**WARNING AND PRECAUTIONS**

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use only and must be used by properly trained operators.

**DISPOSAL OF WASTE**

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.









**BIBLIOGRAPHY**

1. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* – Colony count technique.
2. The European pharmacopoeia (2007) 6<sup>th</sup> ed.
3. 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 Food Poisoning Organisms. Edited by Academic Press London, 137-149.

**PRESENTATION**

PRESENTATION		Contents	Ref.
Lactose Sulfite Broth	Tubes	20 x 9 ml tubes	24468
Lactose Sulfite Broth	Dehydrated medium	500 g of powder	610358

**TABLE OF SYMBOLS**

<b>LOT</b> Batch code	 Keep away from sunlight	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
<b>REF</b> Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net



## Lactose Sulfite Broth

Terreno liquido per la ricerca di  
*C. perfringens*, secondo EP ed ISO 7937.

### DESCRIZIONE

Lactose Sulfite (LS) Broth è un terreno liquido utilizzato per la conferma di *Clostridium perfringens* in alimenti e prodotti farmaceutici.

Il terreno è conforme con le raccomandazioni dettate della Farmacopea Europea ed ISO 7937.

FORMULA TIPICA	(g/l)
Digerito Enzimatico di Caseina	5.0
Estratto di Lievito	2.5
Lattosio	2.5
Sodio Cloruro	10.0
L-Cisteina Idrocloruro	0.3
Disodio Disolfito, Anidro	0.75
Ammonio Citrato Ferrico	0.625
pH Finale 7.1 ± 0.2 a 25°C	

### PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito enzimatico di caseina fornisce aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita degli organismi. L'estratto di lievito è una fonte di vitamine, soprattutto del gruppo-B. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Il lattosio è il carboidrato fermentabile. La cisteina è inclusa per ridurre il potenziale redox del terreno e creare un ambiente anaerobico. Il sodio metabisolfito reagisce con l'ammonio citrato ferrico in presenza di solfuro di idrogeno formando un precipitato nero.

### PREPARAZIONE

Terreno disidratato Sospendere 21.7 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Distribuire in provette con campanella di Durham in porzioni da 9 ml. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

### PROCEDURA DEL TEST

Secondo ISO 7937, inoculare ciascuna colonia nera cresciuta su Sulfite Cycloserine Agar (ref. 163872) in una provetta di Fluid Thioglycollate Medium (ref. 24124). Incubare a 37 ± 1°C per 18-24 ore. Quindi, trasferire 5 gocce della coltura di arricchimento in una provetta di Lactose Sulfite Broth ed incubare a 46°C per 18-24 ore in condizioni aerobiche.

La Farmacopea Europea raccomanda di diluire i campioni 1:100 o 1:1000 con Buffered Peptone Water (ref. 24099). Inoculare Lactose Sulfite Broth ed incubare a 46 ± 0.5°C per 24-48 ore per determinare il numero più probabile di batteri (Most Probable Number).

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

La torbidità del terreno è indice di crescita microbica. I microrganismi anaerobi obbligati come il *Clostridium sporogenes* crescono nella parte bassa giallastra del terreno. La crescita dei microrganismi anaerobi facoltativi come lo *Staphylococcus aureus* è diffusa in tutto il terreno. I microrganismi aerobi come *Pseudomonas aeruginosa* crescono nello strato superficiale e leggermente rosa (parte ossidata) del terreno.

### ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige.  
Terreno preparato: ambra, limpido.

### CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare le provette a 2-8°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

### VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.  
Terreno in provette: 1 anno.

**CONTROLLO DI QUALITÀ**

Il terreno viene inoculato con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività:  $\leq 100$  UFC.

Condizioni di incubazione: atmosfera aerobica a  $46 \pm 0.5^\circ\text{C}$  per 18-48 ore.

**Tabella CQ.**

Microrganismo		Produzione di Gas	Annerimento
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC® 13124	+	+
<i>Clostridium bifermentans</i>	ATCC® 19299	-	+

**AVVERTENZE E PRECAUZIONI**

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso in ambito professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

**SMALTIMENTO DEI RIFIUTI**

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

**BIBLIOGRAFIA**

1. ISO 7937:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* – Colony count technique.
2. The European pharmacopoeia (2007) 6<sup>th</sup> ed.
3. 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 Food Poisoning Organisms. Edited by Academic Press London, 137-149.

PRESENTAZIONE		Contenuto	Ref.
Lactose Sulfite Broth	Provette	Provette 20 x 9 ml	24468
Lactose Sulfite Broth	Terreno disidratato	500 g of polvere	610358

**TABELLA DEI SIMBOLI**

<b>LOT</b> Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbricante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
<b>REF</b> Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare



**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy  
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net