



## CALDO LAURIL SULFATO TRIPTOSE (LST)

ENRIQUECIMENTO SELETIVO DE *ESCHERICHIA COLI* E OUTROS COLIFORMES

### USO

O Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) é um meio de enriquecimento seletivo usado para a detecção e contagem de *Escherichia coli* e Coliformes totais em alimentos e água.

O meio foi formulado por Mallmann e Darby que mostraram, em 1941, que entre um grande número de agentes umectantes, o lauril sulfato de sódio acabou sendo o melhor agente seletivo não exibindo efeito inibitório sobre Coliformes. Levin então demonstrou que esse meio reduzia o número de falsos positivos ao inibir as culturas de bactérias formadoras de esporos.

A fórmula padrão atende à composição definida nas normas NF T90-413 e NF ISO 7251.

### PRINCÍPIOS

O Lauril Sulfato de Sódio inibe amplamente o desenvolvimento de contaminação da microbiota secundária.

Devido ao seu excelente poder nutritivo, assim como a presença de tampões de fosfato, o Caldo LST permite que os Coliformes cresçam rapidamente e produzam gás através da fermentação da lactose, mesmo com pouco inóculos.

### COMPOSIÇÃO TÍPICA

(A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal).

Para 1 litro de meio (concentração simples):

- Triptose ..... 20,00 g
- Lactose ..... 5,00 g
- Fosfato dipotássico ..... 2,75 g
- Fosfato monopotássico ..... 2,75 g
- Cloreto de Sódio ..... 5,00 g
- Lauril sulfato de sódio ..... 0,10 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 6,8 ± 0,2.

### PREPARAÇÃO

#### **Caldo de concentração simples**

- Dissolver 35,6 g de meio desidratado (BK010) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada, para caldo de concentração simples.
- Mexer lentamente até dissolver completamente.
- Distribuir em tubos de 16x160 mm um volume de 10 mL do meio por tubo e adicionar um tubo de Durham em todos eles.
- Esterilizar todos os tubos em autoclave a 121°C por 15 min.
- Resfriar a temperatura ambiente.
- Após o resfriamento, os tubos de Durham não devem conter bolhas.

- Reconstituição: 36,5 g/L
- Esterilização: 15 min a 121 °C



### Caldo de concentração dupla

- Dissolver 71,2 g de meio desidratado (BK010) em 1 litro de água destilada ou deionizada, para caldo de concentração dupla.
- Mexer lentamente até dissolver completamente.
- Distribuir em tubos de 20x200 mm 10 mL do meio por tubo e adicionar um tubo de Durham em todos eles.
- Esterilizar todos os tubos em autoclave a 121°C por 15 min.
- Resfriar a temperatura ambiente.
- Após o resfriamento, os tubos de Durham não devem conter bolhas.

- Reconstituição: 71,2 g/L
- Esterilização: 15 min a 121°C

NOTA: Para a enumeração de suspeita de *Escherichia coli* em leite e produtos lácteos (NF ISO 11866-1), o caldo deve ser adicionado a:

- 0,1 g/L de MUG (4-metil-umbeliferil-β-D- glucuronide, suplemento BS02408) e 1,0 g/L de triptofano, única concentração.
- 0,2 g/L de MUG e 2,0 g / L de triptofano, em dupla concentração

### INSTRUÇÃO DE USO

- Inocular nos tubos contendo LST concentração dupla 10 mL de inóculo.
- Inocular nos tubos contendo LST concentração simples 1 mL do inóculo e suas diluições decimais sucessivos.
- Incubar por 24 ± 2 horas a 30 ± 1°C ou a 37 ± 1°C, dependendo da norma seguida. Se os tubos não puderem ser considerados positivos após 24 horas, incubar por até 48 horas.

### LEITURA

A presença de *Escherichia coli* e/ou Coliformes são caracterizadas pela fermentação da lactose e resulta no desenvolvimento de gás nos tubos de Durham em menos de 48 horas.

Transferir uma alçada de cada tubo presumivelmente positivo para o meio de confirmação apropriado.

### CONTROLE DE QUALIDADE

**Meio desidratado:** pó esbranquiçado e homogêneo.

**Meio preparado:** solução âmbar e transparente.

Resultado do cultivo após 24 a 48 horas de incubação a 30°C (NF EN ISO 11133, FD T90-461):

Microrganismos	Crescimento	Produção de gás (tubo de Durham)
<sup>(1)</sup> <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	Bom	≥ 5 mm
<sup>(1)</sup> <i>Citrobacter freundii</i> WDCM 00006	Bom	≥ 5 mm
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	Parcialmente inibido	Negativo
<i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034	Parcialmente inibido	Negativo

(1) inóculo ≤10<sup>2</sup> microrganismos.

Resultado do cultivo após 24-48 horas de incubação a 37°C (NF EN ISO 11133):

Microrganismos	Crescimento	Produção de gás (tubo de Durham)
<sup>(1)</sup> <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012	Bom	≥ 5 mm
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00087	Parcialmente inibido	Negativo

(1) inóculo ≤10<sup>2</sup> microrganismos.



## **ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA**

**Meio desidratado:** 2-30°C.

**Meio pronto para usar (concentração simples e dupla):** 15-25°C.

As datas de vencimento são mencionadas nas etiquetas.

**Meio preparado em tubos (\*):** 180 dias a 15-25°C.

(\*) Valor indicativo determinado em condições padrão de preparação, seguindo as instruções do fabricante.

A refrigeração de tubos não é recomendada, pois pode causar turvação e formação de precipitado.

## **APRESENTAÇÃO**

**Meio desidratado:**

Frasco de 500 g..... BK010HA

**Meio pronto para usar em tubos com tubos de Durham:**

Caixa com 50 tubos de 10 mL (concentração simples) ..... BM09708

Caixa com 50 tubos de 10 mL (concentração dupla)..... BM09808

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Mallmann, W.L. and Daebly, C.W. 1941. Uses of a lauryl sulphate tryptose broth for the detection of coliform organisms. American Journal of Public Health, 31: 127-134.

Hajna, A.A., and Perry, C.A. 1943. Comparative study of presumptive and confirmative media for bacteria of the coliform group and for fecal streptococci. American Journal of Public Health, 33: 550-556.

NF T90-413. Octobre 1985. Essais des eaux. Recherche et dénombrement des coliformes et des coliformes thermotolérants. Méthode générale par ensemencement en milieu liquide (NPP).

NF ISO 7251. Juillet 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés. Technique du nombre le plus probable.

NF ISO 11866-1. Septembre 2006. Lait et produits laitiers. Dénombrement d'*Escherichia coli* présumés. Partie 1: Technique du nombre le plus probable avec utilisation de 4-méthylumbelliféryl-β-D-glucuronide (MUG).

NF ISO 4831. Octobre 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des coliformes. Technique du nombre le plus probable.

## **OUTRAS INFORMAÇÕES**

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: BOUILLON LAURYSULFATE TRYPTOSE\_FR\_V7.

Data de criação: 01-2003

Data de revisão: 07-2016

Motivo da revisão: Revisão geral.