

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Το MRS AGAR χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη *Γαλακτοβακίλλων* γενικά.

**ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Το κιτρικό αμμώνιο, σε χαμηλό pH, αναστέλλει τους περισσότερους μικροοργανισμούς, αλλά επιτρέπει την ανάπτυξη γαλακτοβακίλλων. Το φωσφορικό κάλιο και το οξικό νάτριο είναι ρυθμιστικοί παράγοντες για τη διατήρηση ενός χαμηλού pH. Το Tween 80 είναι ένας γαλακτωματοποιητής. Τα θειικά μαγγάνιο και μαγνήσιο είναι πηγές ιόντων και θειικού άλατος. Η βακτηριολογική πεπτόνη και το εκχύλισμα βοδινού παρέχουν άζωτο, βιταμίνες, μέταλλα και αμινοξέα απαραίτητα για την ανάπτυξη. Το εκχύλισμα ζύμης είναι μια πηγή βιταμινών, ιδιαίτερα της ομάδας Β. Η δεξτρόζη είναι ο ζυμώμενος υδατάνθρακας. Το βακτηριολογικό άγαρ είναι ο παράγοντας στερεοποίησης.

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Dextrose	20.00
Enzymatic Digest of Casein	10.00
Beef Extract	10.00
Sodium Acetate	5.00
Yeast Extract	4.00
Dipotassium Phosphate	2.00
Triammonium Citrate	2.00
Tween 80	1.08
Magnesium Sulfate Heptahydrate	0.20
Manganese Sulfate Tetrahydrate	0.05
Bacteriological Agar	10.0

Εμφάνιση: Μπεζ διαυγές.

Τελικό pH  $5,7 \pm 0,2$  στους 25 °C.

**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το MRS AGAR είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγιεινοομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.

Εάν το τρυβλίο είναι ραγισμένο ή το σακουλάκι τρύπιο, μη το χρησιμοποιήσετε.

Μη χρησιμοποιείτε τα τρυβλία εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης.

Το πάχος του άγαρ πρέπει να είναι 4 - 5 mm και το υλικό χωρίς ρωγμές, ξηρότητα ή άλλα σημεία αλλοίωσης.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση.

Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

**ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ**

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 2 – 8 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.

Παρατεταμένη φύλαξη σε θερμοκρασία κάτω των 2 °C δημιουργεί αρκετή υγρασία μέσα στο υλικό με κίνδυνο επιμόλυνσης. Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ η με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα τρυβλία μπορούν να παραμείνουν στους 18 - 25 °C για 7 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 48 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

**ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ****Μέθοδος επίστρωσης τρυβλίων:**

1. Παρασκευάστε δεκαδικές αραιώσεις σε αποστειρωμένο αραιωτικό για να λάβετε 30-300 CFU ανά τρυβλίο.
2. Ασηπτικά ενοφθαλμίστε την επιφάνεια του άγαρ με 0,1 ml καλά αναμεμιγμένου αραιωμένου δείγματος.
3. Χρησιμοποιώντας αποστειρωμένο στειλέο απλώστε το δείγμα ομοιόμορφα πάνω στην επιφάνεια του άγαρ.
4. Επωάστε στους 30 °C για 72 ώρες και μετρήστε τις αποικίες στα τρυβλία που περιέχουν μεταξύ 15 και 300 αποικιών.

**Μέθοδος ενσωμάτωσης του δείγματος στο MRS AGAR:**

1. Τοποθετήστε το φιαλίδιο MRS AGAR (150633) σε ένα υδατόλουτρο με βραστό νερό μέχρι να υγροποιηθεί (περίπου για 40 έως 45 λεπτά).
2. Βγάλτε το φιαλίδιο από το υδατόλουτρο και αφήστε το για 40 - 50 λεπτά σε δροσερό μέρος (20 – 25 °C). Έχει υπολογιστεί ότι η θερμοκρασία του υλικού θα κατέβει στους 54 – 50 °C.

3. Παρασκευάστε δεκαδικές αραιώσεις σε αποστειρωμένο αραιωτικό για να λάβετε 30-300 CFU ανά τρυβλίο.
  4. Τοποθετήστε 1 ml από το δείγμα σε ένα κενό στείρο τρυβλίο Petri.
  5. Προσθέστε ασηπτικά περίπου 18 - 19 ml από το υγροποιημένο MRS AGAR (45-50 °C) πάνω από το δείγμα. Περιστρέψτε προσεκτικά το τρυβλίο για να αναμίξετε ομοιόμορφα το δείγμα.  
Προσοχή το υγροποιημένο MRS AGAR αρχίζει και στερεοποιείται κάτω από τους 40 °C.
  6. Αφήστε τα τρυβλία να στερεοποιηθούν.
  7. Επωάστε στους 30 °C για 72 ώρες και μετρήστε τις αποικίες στα τρυβλία που περιέχουν μεταξύ 15 και 300 αποικιών.
- Σημείωση:** Μην θερμαίνετε το υγροποιημένο MRS AGAR περισσότερο από τρεις ώρες στους 45-50 °C.  
Το φιαλίδιο MRS AGAR μπορεί να υγροποιηθεί μόνο μία φορά.

#### ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

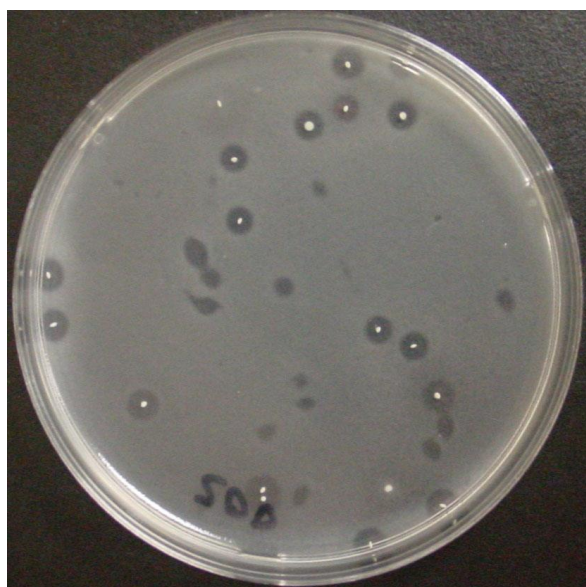
Μετά την επώαση, εξετάστε τα τρυβλία για ανάπτυξη. Μετρήστε τον αριθμό των αποικιών και υπολογίστε τον ανά γραμμάριο ή ml δείγματος (CFU) λαμβάνοντας υπόψη τον συντελεστή αραιώσης. Αν τοποθετήθηκαν δύο τρυβλία σε κάθε δείγμα, υπολογίστε τον μέσο όρο των αποικιών μεταξύ των δύο τρυβλίων ανά γραμμάριο ή ml δείγματος.

#### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ανάπτυξη ορισμένων στελεχών Λακτοβακίλλων αναστέλλεται σε pH υψηλότερο από 6,0 και είναι απαραίτητο να οξυνισθεί το μέσο για να ευνοηθεί η ανάπτυξη. Με ένα pH 5,7 ± 0,1, αυτό το μέσο ευνοεί την ανάπτυξη αυτών των στελεχών.

#### ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικρόβιο	ATCC	Ανάπτυξη αποικίας(mm)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4356	Καλή (τραχιές) (0.5-2.5)
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	11842	Καλή (1,0-1,3)



*Lactobacillus acidophilus*

#### ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα. Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικός μολυσματικά απόβλητα. Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

#### ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

MRS AGAR (pH 5,7) (ISO 15214)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010633	10 τεμάχια	2 – 8 °C	5 μήνες
Φιαλίδιο 200ml	150633	6 τεμάχια	2 – 25 °C	12 μήνες

Η εταιρεία Biorprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ISO 15214: Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria -- Colony-count technique  
ROGOSA, M., a. SHARPE, M.E.: An approach to the classification of the lactobacilli. â€œ J. Appl. Bact., 22; 329-340 (1959).

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO

**Bioprepare**  
microbiology



**Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.**

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: [bioprep1@otenet.gr](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprepare.gr](http://www.bioprepare.gr)