

MRS AGAR WITH TWEEN 80

Terreno in polvere e piastre pronte all'uso per la coltivazione dei lattobacilli

MRS BROTH WITH TWEEN 80

Terreno in polvere per la coltivazione dei lattobacilli

MRS AGAR : FORMULA TIPICA (g/L)

Peptone	10.00
Estratto di carne	10.00
Estratto di lievito	5.00
Glucosio	20.00
Potassio fosfato bib.	2.00
Sodio acetato	5.00
Diammonio citrato	2.00
Magnesio solfato	0.20
Manganese solfato	0.05
Tween 80	1.00 mL
Agar	15.00

MRS BROTH FORMULA TIPICA (g/L)

Peptone	10.00
Estratto di carne	10.00
Estratto di lievito	5.00
Glucosio	20.00
Potassio fosfato bib.	2.00
Sodio acetato	5.00
Diammonio citrato	2.00
Magnesio solfato	0.20
Manganese solfato	0.05
Tween 80	1.00 mL

PREPARAZIONE DEI TERRENI IN POLVERE

Sospendere 70,2 g di MRS Agar o 55,2 g di MRS Broth in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione, distribuire ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti. pH finale è 6,4 ± 0,2

DESCRIZIONE

MRS Agar e Broth, preparati secondo la formula di De Man, Rogosa e Share, sono terreni selettivi indicati per l'isolamento dei lattobacilli. Sui due terreni coltivano lattobacilli provenienti da qualsiasi materiale: latte, prodotti lattiero caseari, cavo orale, feci, ed inoltre i lattobacilli normalmente difficili da coltivare su altri terreni (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*).

Il Tween 80, il sodio acetato e l'ammonio citrato intensificano la crescita dei lattobacilli, il magnesio solfato è inserito per motivi precauzionali poichè l'estratto di lievito dovrebbe fornire una quantità di magnesio sufficiente alla loro crescita.

IMPIEGO

Per l'isolamento dei lattobacilli operare secondo lo schema seguente:

1- Inserire 1 mL del campione liquido o 1 mL della sospensione madre se solido ed 1 mL delle successive diluizioni decimali in piastre Petri e aggiungere 10-15 mL di terreno.

2 - In funzione del tipo di ricerca da eseguire incubare come segue:

lattobacilli termofili: 42 °C per 48 ore; lattobacilli mesofili: 35 °C per 48 ore; lattobacilli psicrofili: 25 °C per 5 giorni; mesofili e psicrofili: 30 °C per 48 ore + 22 °C per 24 ore

Per il conteggio di *L.bulgaricus* nello yogurth seminare 1 mL delle diluizioni decimali del campione in piastre sterili. Aggiungere 15 mL di MRS Agar acidificato a pH 5,4, (si consiglia l'uso di acido acetico, in accordo alla norma UNI 10356) lasciare solidificare ed incubare a 37 °C in anaerobiosi per 72 ore. *Leuconostoc mesenteroides* e *Leuconostoc dextranicum* si ritrovano frequentemente nello stesso habitat dei lattobacilli, soprattutto di *Lactobacillus brevis* e possono coltivare su MRS Agar e Broth; questi due microrganismi possono comunque essere distinti per la loro capacità di fermentare il trealosio ma non di idrolizzare l'arginina. Le colonie coltivate su MRS Agar o la crescita in MRS Broth devono essere sottoposte alle prove biochimiche per l'identificazione dei lattobacilli secondo lo schema suggerito da Share, Frey e Smith.

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo produttività: *L.fermentum* ATCC 9338: crescita; *L.sake* ATCC 15521: crescita
Incubazione a 37 °C per 48 h

CONSERVAZIONE

Terreni in polvere: conservare a 2-8°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni MRS Agar e MRS Broth sono validi fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperte le confezioni, conservare i prodotti mantenendo il tappo dei contenitori ben chiusi. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.). Conservare le piastre e le provette di MRS Agar e di MRS Broth preparate in laboratorio per un massimo di 15 giorni a 2-8°C.

Terreno in piastra pronto all'uso: conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreni in polvere: MRS Agar e MRS Broth non sono classificabili come pericolosi ai sensi della legislazione vigente ma contengono ammonio citrato (classificabile come Xi irritante) ad una concentrazione $\geq 1\%$ e come tale richiedono la scheda di sicurezza, che deve essere consultata prima dell'uso dei due terreni. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di MRS Agar e MRS Broth deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Terreno pronto all'uso in piastra : il preparato non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$.

I prodotti qui descritti devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre e le provette dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Briggs M. (1953) J. Dairy Res., **20**, 36.
- Cox, G.P. & Briggs M. (1954) J. App. Bact. **17**, 18.
- De Man, J.C., Rogosa, M. & Share, M.E. (1960).. J. Appl. Bact. **23**, 130-135.
- UNI 10356:1993 - Yogurt. Conta dei microrganismi caratteristici. Tecnica per il conteggio delle colonie a 37 C.

CONFEZIONI

Terreni in polvere

4017282	MRS Agar with Tween 80,	500 g (7.2 L)
4017284	MRS Agar with Tween 80,	5 kg (72 L)
4017292	MRS Broth with Tween 80,	500 g (9.2 L)
4017294	MRS Broth with Tween 80,	5 kg (92 L)

Il terreno MRS Agar è disponibile anche in piastre pronte

541728	MRS Agar with Tween 80,	20 piastre
---------------	--------------------------------	------------