

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН
Государственный научный центр при-
кладной микробиологии и
биотехнологии

_____ И.А. Дятлов

« ____ » _____ 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению питательной среды для выделения, подсчета и
культивирования лактобацилл сухая (MRS агар)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда для выделения, подсчета и культивирования лактобацилл сухая (MRS агар) предназначена для культивирования, выделения и подсчета всех видов *Lactobacillus* из пищевых продуктов и других тестируемых материалов при проведении санитарно-эпидемиологических исследований. *Не является медицинским изделием!*

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

MRS агар представляет собой смесь сухих компонентов в виде мелкодисперсного, гигроскопичного, светочувствительного порошка желтого цвета. Выпускается в двух модификациях с различным содержанием агара – (13,0±3,0) г/л и 0,9 г/л.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав MRS агар, обеспечивает питательные потребности для роста лактобацилл и ингибиции отдельных видов микроорганизмов.

2.2. Состав

MRS агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Состав, г/л:	Модификация 1	Модификация 2, полу жидкий
Панкреатический гидролизат рыбной муки с твином сухой по ТУ 9283-242-78095326-2016	21,5	21,5
Экстракт пекарских дрожжей (Springer 0251/0-PW-L (тип D), Bio Springer, Франция)	5,0	5,0
Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805-76	5,0	5,0
D-глюкоза по ГОСТ 6038-79	20,0	20,0
Калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198-75	2,0	2,0
Натрий уксуснокислый, безводный, импортный	3,0	3,0
Аммоний лимоннокислый двузамещенный по ТУ 6-09-01-755-89 ...	2,0	2,0
Магний сернокислый 7-водный по ГОСТ 4523-77	0,1	0,1
Марганец хлористый 4-водный по ГОСТ 612-75	0,05	0,05
Агар бактериологический (Pronadisa, Испания, кат. № 1814)	(13,0±3,0)*	0,9
Примечание: *) Варьирование величины связано с различной прочностью студня агара		

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность. MRS агар (модификация 1) обеспечивает рост тест-штаммов *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, *Lactobacillus brevis* ATCC 367, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ATCC 11842 при посеве микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10^{-6} по 0,1 мл на всех засеянных чашках Петри через 44-48 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С в атмосфере 5-10 % содержания CO₂ в виде гладких, круглых, белых колоний диаметром не менее 1,0 мм. Допускается появление единичных колоний в RS-форме.

MRS агар (модификация 2, полужидкий) обеспечивает рост тест-штаммов *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, *Lactobacillus brevis* ATCC 367, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ATCC 11842 при посеве микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10^{-7} по 1 мл во всех засеянных пробирках через 24 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С в виде комет, штрихов, расположенных по всему столбику среды с прозоной в верхней части.

Ингибирующие свойства. MRS агар (модификация 1) полностью подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (055:K59), *Pseudomonas aeruginosa* 27/99 на всех засеянных чашках при посеве по 0,1 мл микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10^{-3} через 44-48 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С в атмосфере 5-10 % содержания CO₂.

MRS агар (модификация 2) полностью подавляет рост тест-штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (055:K59), *Pseudomonas aeruginosa* 27/99 во всех засеянных пробирках при посеве по 1 мл микробной взвеси культуры каждого тест-штамма из разведения 10^{-2} через 18-24 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С.

4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 37 °С;
- Весы лабораторные 2 класса точности;
- Автоклав;
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл;
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл;
- Чашки;
- Вода дистиллированная;
- Колбы;
- Воронки стеклянные.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Пищевые продукты и другие тестируемые материалы при проведении санитарно-эпидемиологических исследований.

6. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1. Приготовление питательной среды.

Навеску MRS агара в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, доводят до кипения и кипятят, периодически перемешивая, в течение 3 мин до полного расплавления агара, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, стерилизуют автоклавированием при темпе-

ратуре (121 ± 1) °C в течение 15 мин, охлаждают при комнатной температуре до (45-50) °C и разливают в стерильные чашки Петри по ТУ 64-2-19-79 слоем 4-5 мм (модификация 1) или по 9 мл в стеклянные пробирки (модификация 2). Перед посевом чашки со средой выдерживают в течение 48 ч при комнатной температуре.

Готовая питательная среда, разлитая в чашки Петри и пробирки, прозрачная коричневого цвета.

Готовую среду можно использовать в течение 10 суток после её приготовления при условии хранения при температуре 2-8 °C и 5 суток при температуре хранения 18-25 °C.

6.2. Посев пробы анализируемого образца, приготовленной в соответствии с требованиями ГОСТ 10444.11-2013 (ISO 15214-1998) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов».

6.3. Исследуемый материал засевают на чашки Петри и стерильным шпателем распределяют взвесь по поверхности среды (модификация 1) или в толщу столбика среды (модификация 2). Инкубируют при температуре (37 ± 1) °C в атмосфере 5-10 % содержания CO₂ (свечной сосуд, CO₂-инкубатор) при использовании модификации 1. При отсутствии CO₂-инкубатора или свечного сосуда возможен посев исследуемого материала в толщу MRS агара.

7. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

MRS агар (модификация 1): Учет результатов проводят визуально через 44-48 ч инкубации. Лактобациллы вырастают в виде гладких, круглых, белых, полупрозрачных или сероватых колоний диаметром не менее 1 мм. Возможен также рост лактобацилл в виде шероховатых, уплощенных колоний. При посеве исследуемого материала в толщу Лактобакагара лактобациллы вырастают в виде белых колоний чечевицеобразной формы внутри среды.

MRS агар (модификация 2): Учет результатов проводят визуально через 18-24 ч инкубации. Лактобациллы вырастают в виде комет, штрихов, расположенных по всему столбику среды с прозоной в верхней части.

Питательная среда подавляет рост кишечной палочки, клебсиелл и псевдомонад. Энтерококки и дрожжеподобные грибы могут расти на MRS агаре подобно лактобациллам. Поэтому для идентификации лактобацилл необходима бактериоскопия мазков. В мазках, окрашенных по Граму, лактобациллы представляют собой грамположительные

неспорообразующие палочковидные бактерии, форма которых варьирует от вытянутых палочек до коккобацилл, образующих короткие цепочки.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

MRS агар необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества MRS агара в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.