

## Especificación

Medio de cultivo sólido de Man, Rogosa y Sharpe para la detección, aislamiento y crecimiento de lactobacilos y otras bacterias del ácido láctico a partir de muestras de alimentos y bebidas.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos Botella 125 ml con: 100 ± 3 ml	1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón inyectable: tapón plástico con rosca. No se recomienda la utilización de jeringas con agujas de diámetro superior a 0,8 mm.	12 meses	8-25 °C

## Composición

Composición (g/l):	
Proteosa peptona.....	10,0
Extracto de carne.....	8,00
Extracto de levadura.....	4,00
D-(+)-Glucosa.....	20,0
Acetato sódico.....	5,00
Sulfato de magnesio.....	0,20
Manganeso sulfato.....	0,05
Fosfato dipotásico.....	2,00
Polisorbato 80.....	1,00
Citrato amónico.....	2,00
Agar.....	14,0

## Descripción/Técnica

### Descripción

El medio MRS es una modificación que suple con ventaja a los medios anteriormente utilizados para el cultivo de lactobacilos, todos ellos basados en las propiedades nutritivas del jugo de tomate. La adición de magnesio, manganeso y acetato, junto con el polisorbato facilitan en gran forma el crecimiento de los bacilos lácticos, incluso las especies más exigentes, como *Lactobacillus brevis* y *Lactobacillus fermenti*.

La alta calidad de las peptonas y los suplementos de los extractos de carne y levadura, proporcionan los factores de crecimiento necesarios para hacer del MRS uno de los medios más completos para el cultivo de lactobacilos. Sin embargo su selectividad es escasa y con frecuencia se suelen presentar contaminantes, con lo cual se precisa una mayor selección. Para ello se recomiendan los subcultivos alternados en medio sólido, en doble capa y en caldo. En muchas ocasiones el crecimiento se favorece con una atmósfera de CO<sub>2</sub>.

El medio de MRS está especialmente recomendado para la enumeración y mantenimiento de bacilos lácticos, ya sea por la técnica del NMP (Caldo MRS) o en placa por siembra en masa y cubriéndolo con una segunda capa de medio fundido, que normalmente evita la necesidad de la atmósfera enriquecida en CO<sub>2</sub>, sobre todo en el primo-aislamiento.

### Técnica:

Recoger, diluir y preparar las muestras y los volúmenes adecuados según las normativas, y / o directivas oficiales .

Sembrar la superficie de la placa por aislamiento en estria , banco de dilución o método en espiral según la muestra o metodología a seguir.

Incubar las placas en posición invertida , en CO<sub>2</sub> a 30 ±1°C durante 72 ±3h.

Según muestra, normativa, metodología, etc , puede sembrarse a partir de un caldo enriquecido de MRS.

Proceder al recuento de colonias y considerar las diluciones realizadas para calcular la carga microbiana en la muestra analizada.

Nota: Los medios sólidos pueden fundirse de diferentes maneras: autoclave, baño y si el cliente lo ve conveniente también el microondas. Siempre que se escoja la opción del microondas es necesario tomar ciertas medidas de seguridad para evitar la rotura del frasco o tubo, tales como aflojar el tapón y poner la botella o tubo en un baño maría dentro del microondas. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados.

**Control de Calidad****Control Físico/Químico**

Color : Amarillo marronoso      pH: 6,2 ± 0,2 a 25°C

**Control de Fertilidad**Fusión -Preparar placas- sembrar en productividad: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC/ 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> UFC( Selectividad cualitativa).

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Anaerobiosis. Incubación a 30 ±1 °C durante 72 ±3 h

Control microbiológico según normativa ISO 11133:2014/ A1:2018.

**Microorganismo***Escherichia coli* ATCC® 25922, WDCM 00013*Lactobacillus sakei* ATCC® 15521, WDCM 00015*Lactococcus lactis* ATCC® 19435, WDCM 00016*Pediococcus pentosaceus* ATCC® 33316, WDCM 00158**Desarrollo**

Escaso a bueno

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

**Control de Esterilidad**

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

**Bibliografía**

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Culture Media. CRC Press. BocaRaton, Fla. USA
- CORRY, J.E.L., G.D.W. CURTIS & R.M. BAIRD, Eds. (2003) Handbook of Culture Media for Food Microbiology. Elsevier Science B.V. Amsterdam
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington DC., USA
- LAWRENCE, D.R. & P.A. LEEDHAM (1979). The detection of acid lactic bacteria. J. Int. Brew. 85:119-121
- ISO Standard 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage, and performance testing of culture media.
- McFADDIN, J. (1985) Media for the isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria. Vol. I. William & Wilkins. Baltimore. USA
- MAN, J.C. de, ROGOSA, M. y SHARPE, M. Elisabeth (1960) A medium for the cultivation of lactobacilli. J. Appl. Bact.; 23:130.
- SMITH, C.E., G.P. CASEY & W.M. INGLEDEW (1987). The use and understanding of media used in Brewing Microbiology. - Update 1987 – Brewer's Digest 62(10)12-16, 43.
- VAN KEER, C., L. van MELKEBEKE, W. VERTRIEST, G. HOOZEE & E. Van SCHOONENBERGHE (1983) Growth of Lactobacillus species on different media. J. Inst. Brew. 89:361-363.