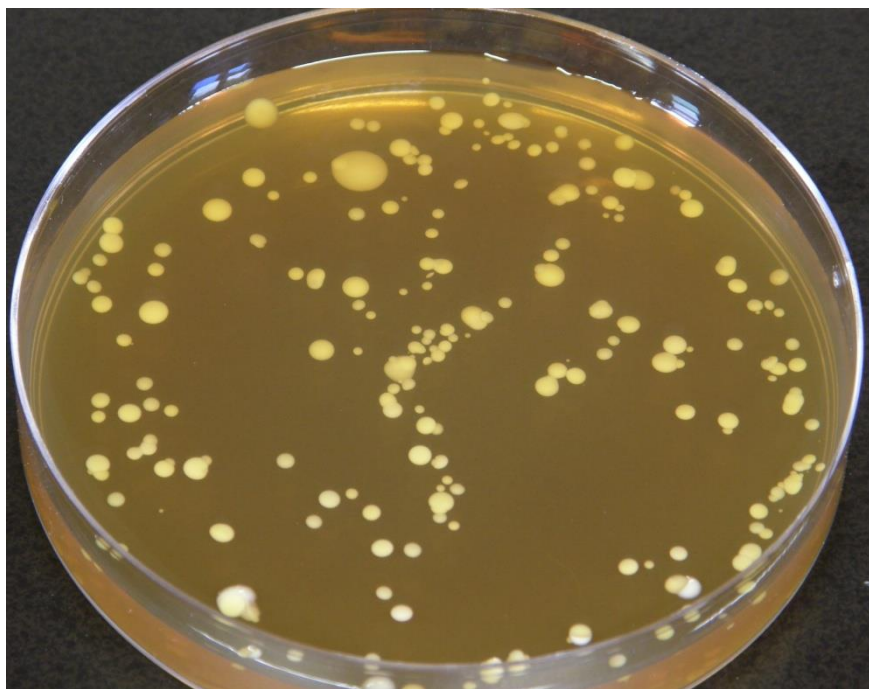


2.2.1 DeMAN, ROGOSA and SHARPE (M.R.S)

Τα συστατικά του MRS είναι τα παρακάτω: Proteose peptone No.3 (ενζυμικά διασπασμένη Πεπτόνη), Beef extract (εκχύλισμα αποξηραμένων βοδινών μυών), Yeast extract (εκχύλισμα ζύμης), Δεξτρόζη, Sorbitan monooleate complex, Κιτρικό αμμώνιο, Οξικό νάτριο, Θεικό μαγνήσιο, Θεικό μαγγάνιο, Μονοφωσφορικό νάτριο (Difco Manual).

Το υλικό έχει αποδειχτεί ότι επιτρέπει την πολύ καλή ανάπτυξη των βακτηρίων του γένους *Lactobacillus* (Εικόνα 10). Για την ευνοϊκή ανάπτυξη των μικροοργανισμών απαιτείται επικάλυψη του εμβολίου με λεπτή στρώμα του ίδιου υλικού, ώστε να επιτευχθούν οι μικροαεροφιλικές συνθήκες ανάπτυξης, δηλαδή μείωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στο υπόστρωμα ως προς την ατμοσφαιρική.

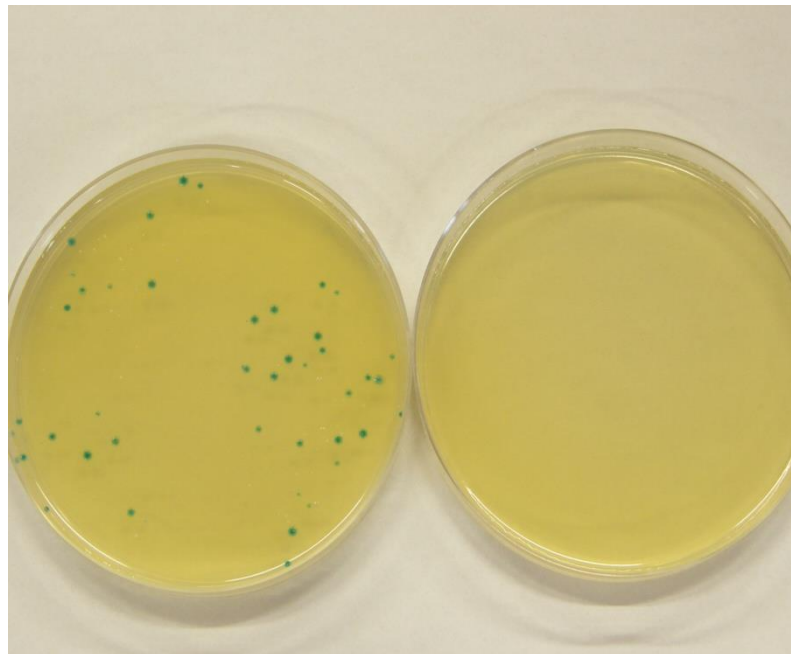


Εικόνα 10: Υλικό MRS με ανάπτυξη βακτηρίων

2.2.2 *Listeria* Selective Agar (L.A.)

Το υλικό αυτό αποτελείται από: πεπτόνη από ζωική πρωτεΐνη, πεπτόνη από καζεΐνη, εκχύλισμα ζύμης, πυρουβικό νάτριο, γλυκόζη, γλυκεροφωσφορικό μαγνήσιο, θεικό μαγνήσιο, χλωριούχο νάτριο, χλωριούχο λίθιο, μονόξινο φωσφορικό νάτριο, άγαρ, Sodium-ethyl-1-dihydro-1,4-methyl-7-oxo-4-naphthyridine-1,8-carboxylate-3, listeria agar enrichment-supplement το οποίο είναι L-a-phosphatidyli nositol (Difco Manual).

Το υπόστρωμα αυτό είναι πλούσιο σε θρεπτικά υλικά και ιδανικό για την ανάπτυξη χαρακτηριστικών αποικιών της *Listeria* (Εικόνα 11). Οι αποικίες έχουν σχήμα στρογγυλό με χαρακτηριστικό γαλαζοπράσινο χρώμα.



Εικόνα 11: Υλικό LA με χαρακτηριστικές αποικίες

2.2.3 Standard Methods Agar (SMA)

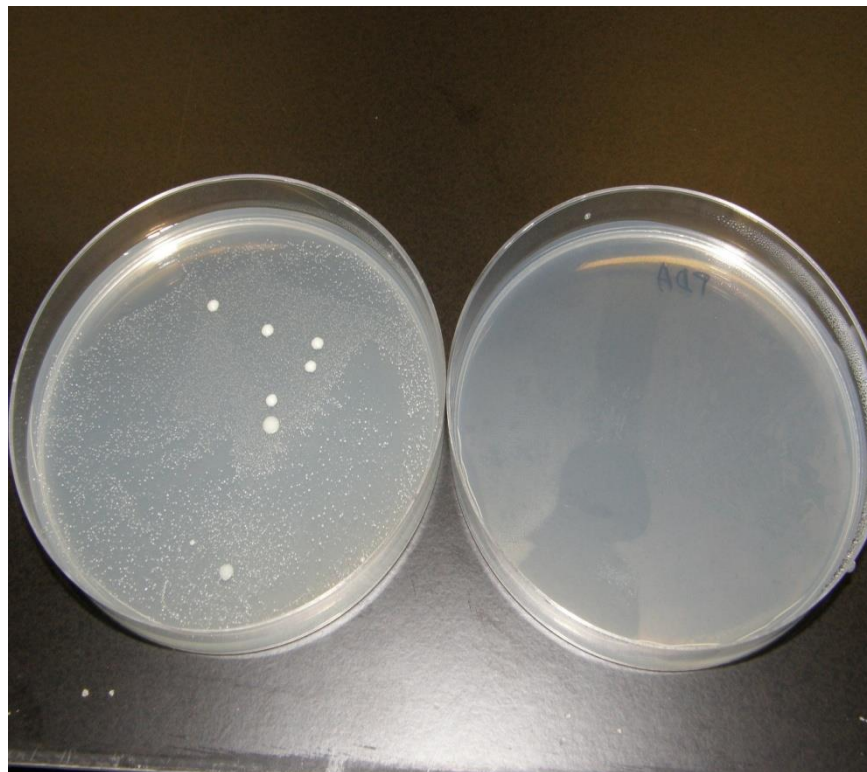
Το SMA αποτελείται από: καζεΐνη, εκχύλισμα ζύμης, γλυκόζη, άγαρ. Πρόκειται για ένα υλικό πλούσιο σε θρεπτικές ουσίες που αναπτύσσονται όλα τα βακτήρια (Εικόνα 12). Οι αποικίες των μικροοργανισμών, που αναπτύσσονται σε αυτό, δεν δίνουν χαρακτηριστικό χρώμα, εκτός αν το ίδιο το μικροβιακό κύτταρο έχει δικιά του χρωστική (Difco Manual).



Εικόνα 12: Υλικό SMA με την ανάπτυξη βακτηρίων

2.2.4 Potato Dextrose Agar (P.D.A.)

Το P.D.A. αποτελείται από: Εκχύλισμα πατάτας, Δεξτρόζη, Άγαρ και έχει τελικό pH 5.6. Το εκχύλισμα πατάτας βοηθά την ανάπτυξη των μυκήτων, που τυχόν βρίσκονται στα τυροκομικά προϊόντα, ενώ το χαμηλό pH παρεμποδίζει την ανάπτυξη πολλών βακτηρίων (Εικόνα 13) (Difco Manual).

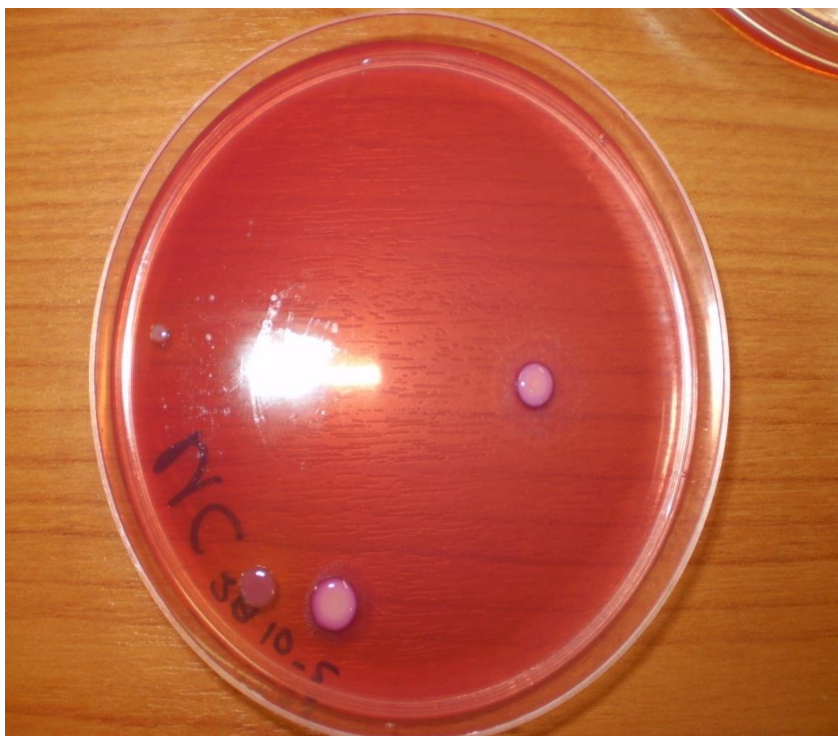


Εικόνα 13: Υλικό PDA με ανάπτυξη μικροοργανισμών

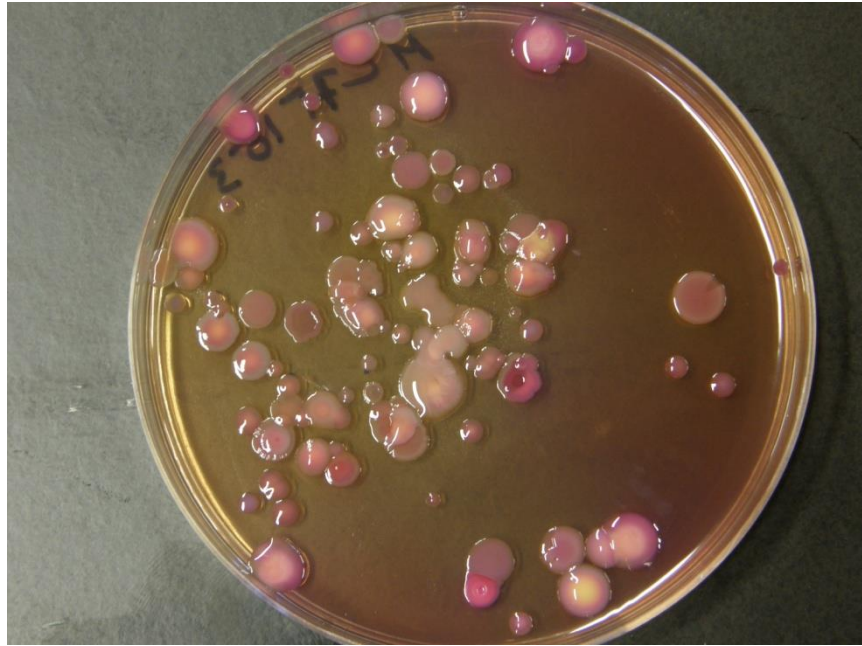
2.2.5 Mac Conkey Agar (M.C.)

Το M.C. αποτελείται από: Πεπτόνη, Proteose peptone, Λακτόζη, Χολικά άλατα No.3, Χλωριούχο νάτριο, Άγαρ, Neutral red, Crystal violet (Difco Manual).

Το M.C. είναι ένα υπόστρωμα εκλεκτικό και διαγνωστικό για τα Gram-βακτήρια. Η ύπαρξη των χολικών αλάτων αναστέλλει την ανάπτυξη των Gram+ μικροοργανισμών. Εξάιρεση αποτελεί η *Listeria monocytogenes*. Η διάγνωση των μικροοργανισμών βασίζεται στο χρωματισμό της αποικίας που δημιουργούν. Έτσι, η ομάδα των coliform δημιουργεί κόκκινες αποικίες στο υλικό. Μικροοργανισμοί, που δεν χρησιμοποιούν την λακτόζη, όπως η *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus* δημιουργούν διαυγείς ή ελαφρά θολές αποικίες. Τέλος, οι αποικίες της *E.coli* είναι συνήθως κόκκινες και στεγνές, ενώ του *Enterobacter* είναι κόκκινες και βλεννώδεις (Εικόνα 14,15,16).



Εικόνα 14: Υλικό MC με ανάπτυξη βακτηρίων που χρησιμοποιούν την λακτόζη.



Εικόνα 15: Υλικό MC με ανάπτυξη βακτηρίων.

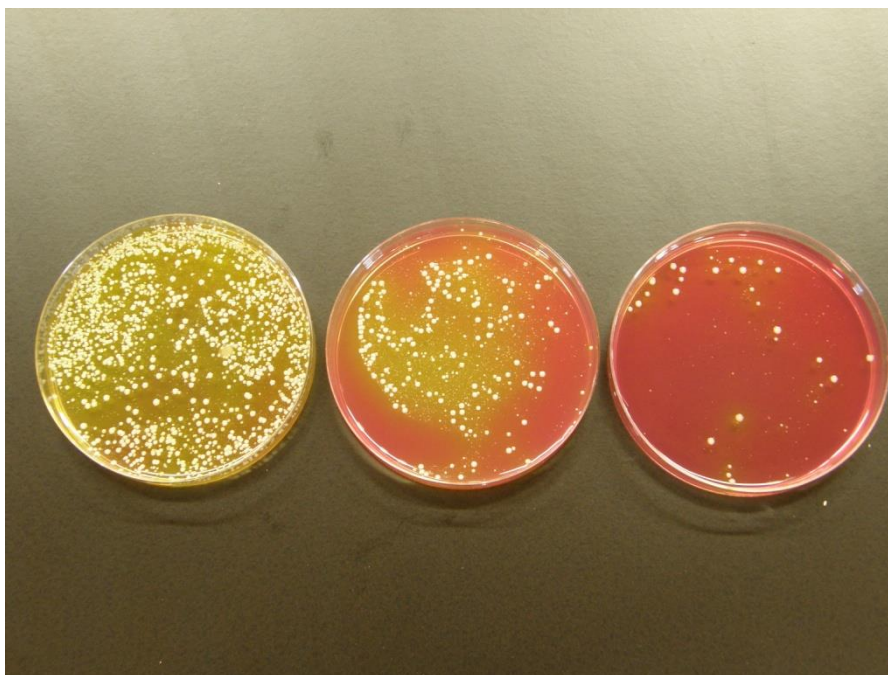


Εικόνα 16: Υλικό MC με ανάπτυξη βακτηρίων.

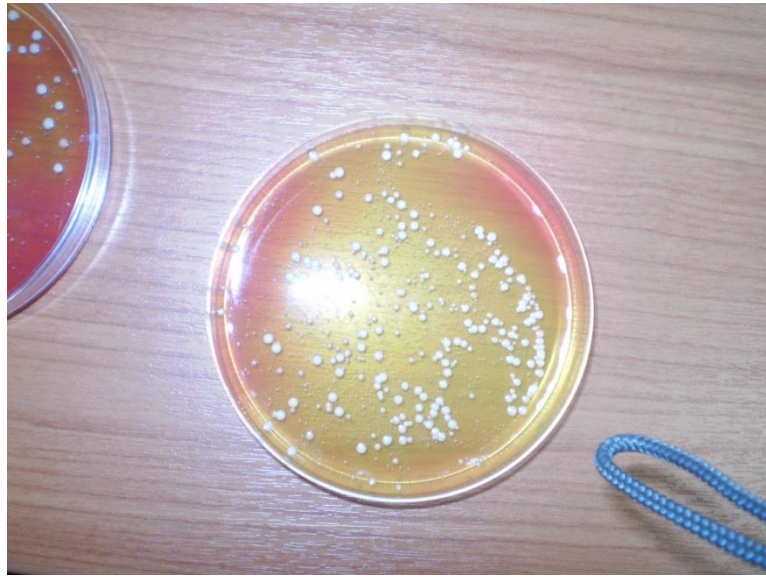
2.2.6 Mannitol Salt Agar (M.S.A.)

Το υπόστρωμα αυτό αποτελείται από: Proteose peptone, Beef extract, D-mannitol, Χλωριούχο νάτριο 75g/L, Αγαρ, Phenol red (Difco Manual).

Η ανάπτυξη μικροοργανισμών στο M.S.A. είναι ενδεικτική της ύπαρξης σταφυλόκοκκου. Η μεγάλη συγκέντρωση (7,5%) χλωριούχου νατρίου παρεμποδίζει την ανάπτυξη των περισσοτέρων μικροοργανισμών εκτός από το γένος των σταφυλόκοκκων. Ο παθογενής σταφυλόκοκκος, *Staphylococcus aureus*, δίνει κίτρινες αποικίες και αλλάζει το χρώμα του υλικού από κόκκινο σε κίτρινο γύρω από τις αποικίες του, ενώ οι μη παθογενείς σταφυλόκοκκοι δεν αλλάζουν το χρώμα του υλικού (Εικόνα 17, 18, 19). Η αλλαγή αυτή οφείλεται στην χρησιμοποίηση του σακχάρου/αλκοόλης mannitol και στην μείωση του pH από τα παθογενή στελέχη.



Εικόνα 17: Υλικό MSA με ανάπτυξη *Staphylococcus*



Εικόνα 18: Υλικό MSA με ανάπτυξη *Staphylococcus*

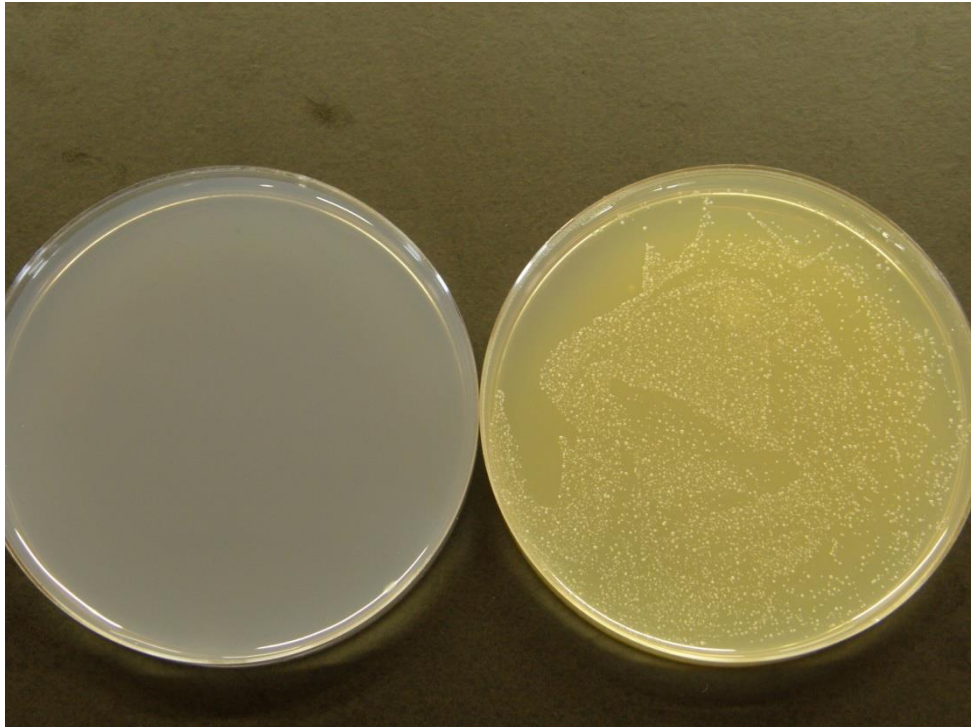


Εικόνα 19: Υλικό MSA με ανάπτυξη *Staphylococcus*

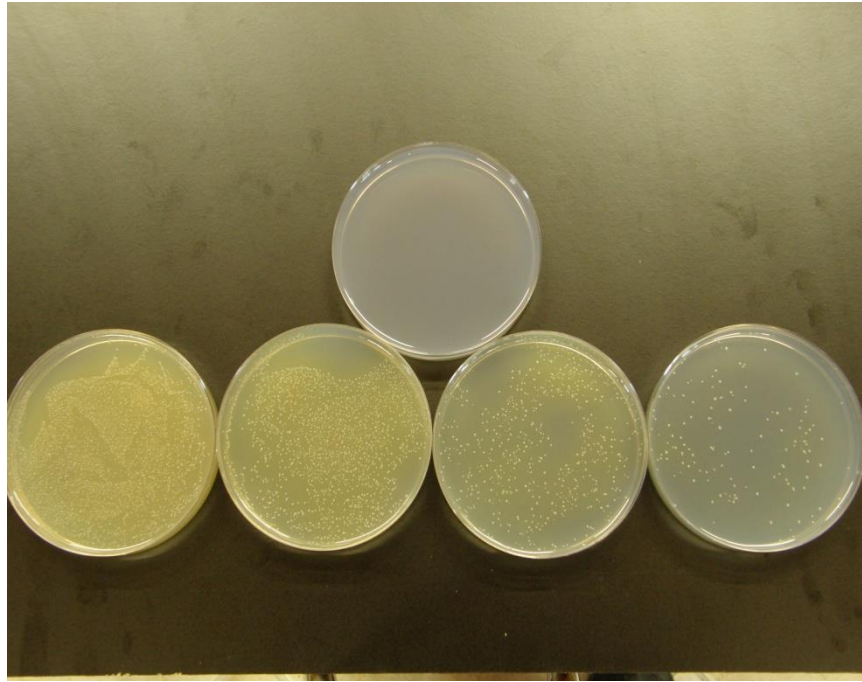
2.2.7 Brewer (BRE)

Αυτό το υλικό αποτελείται από: καζεΐνη, πεπτόνη, εκχύλισμα ζύμης, γλυκόζη, χλωριούχο νάτριο, άγαρ, θειογλυκολικό νάτριο, resazurin, σουλφοξιδικό-φορμαλδευδικό νάτριο (Difco Manual).

Το υπόστρωμα αυτό είναι πλούσιο σε θρεπτικά υλικά και ιδανικό για την ανάπτυξη απαιτητικών μικροοργανισμών, ειδικά σε αναερόβιο περιβάλλον. Οι αποικίες των μικροοργανισμών, που αναπτύσσονται σε αυτό, δεν δίνουν χαρακτηριστικό χρώμα (Εικόνα 20,21), εκτός αν το ίδιο το μικροβιακό κύτταρο έχει δικιά του χρωστική.



Εικόνα 20: Υλικό BRE με ανάπτυξη μικροοργανισμών

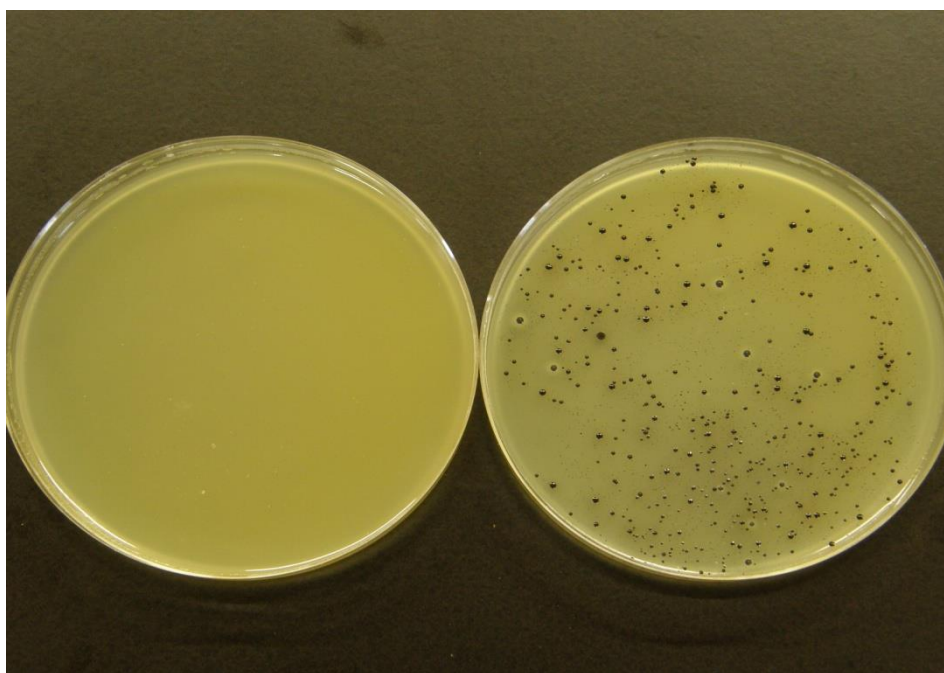


Εικόνα 21: Υλικό BRE με ανάπτυξη μικροοργανισμών σε διαφορετικές αραιώσεις

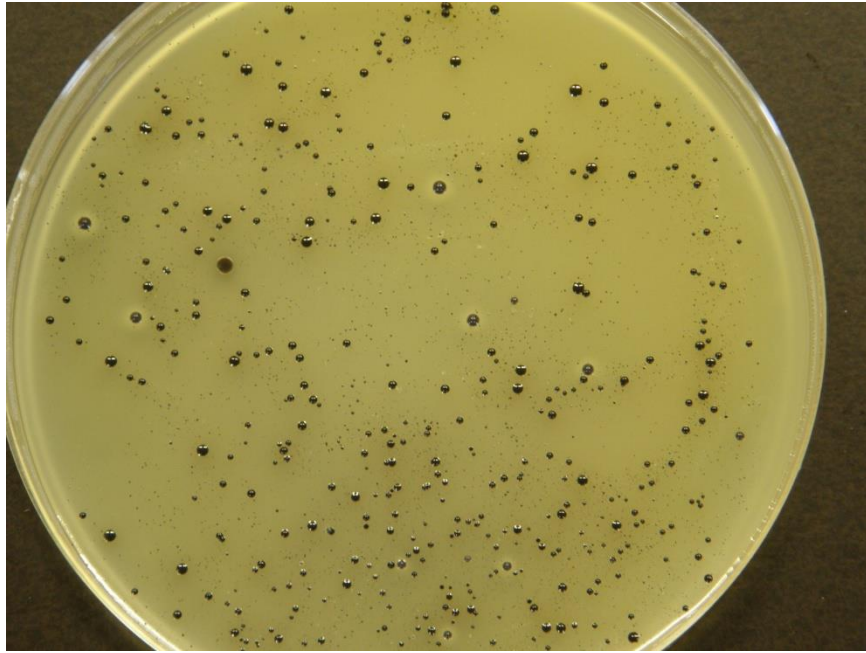
2.2.8 BAIRD-PARKER (B-P)

Το B-P αποτελείται από τα εξής: καζεΐνη, εκχύλισμα μυός βοδιού, εκχύλισμα ζύμης, γλυκίνη, πυρροβικό νάτριο, χλωριούχο λίθιο, άγαρ, egg yolk tellurite enrichment (Difco Manual).

Το υλικό αυτό επιτρέπει την ανίχνευση, καταμέτρηση και απομόνωση των θετικών (+) στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκων μετά από 24 ώρες επώαση από ποικιλία πρώτων υλών όπως προϊόντα τροφίμων, αέρα, σκόνη, έδαφος, κόπρανα, δέρμα και βλεννογόνους. Το υλικό περιέχει λίθιο και τελουρικό κάλιο που αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών πλην του *S. aureus*. Επιπλέον το πυρροβικό και η γλυκίνη έχουν συμπεριληφθεί ώστε να βοηθούν στην ανάπτυξη των σταφυλόκοκκων. Το τελουρικό και ο κρόκος αυγού είναι υπεύθυνα για τον διαχωρισμό των θετικών (+) στην κοαγκουλάση σταφυλόκοκκων με το σχηματισμό μαύρων γυαλιστερών αποικιών που περιβάλλονται από μια διαυγή ζώνη (Εικόνα 22, 23).



Εικόνα 22: Υλικό B-P με αποικίες παθογόνους και μη παθογόνους σταφυλόκοκκου



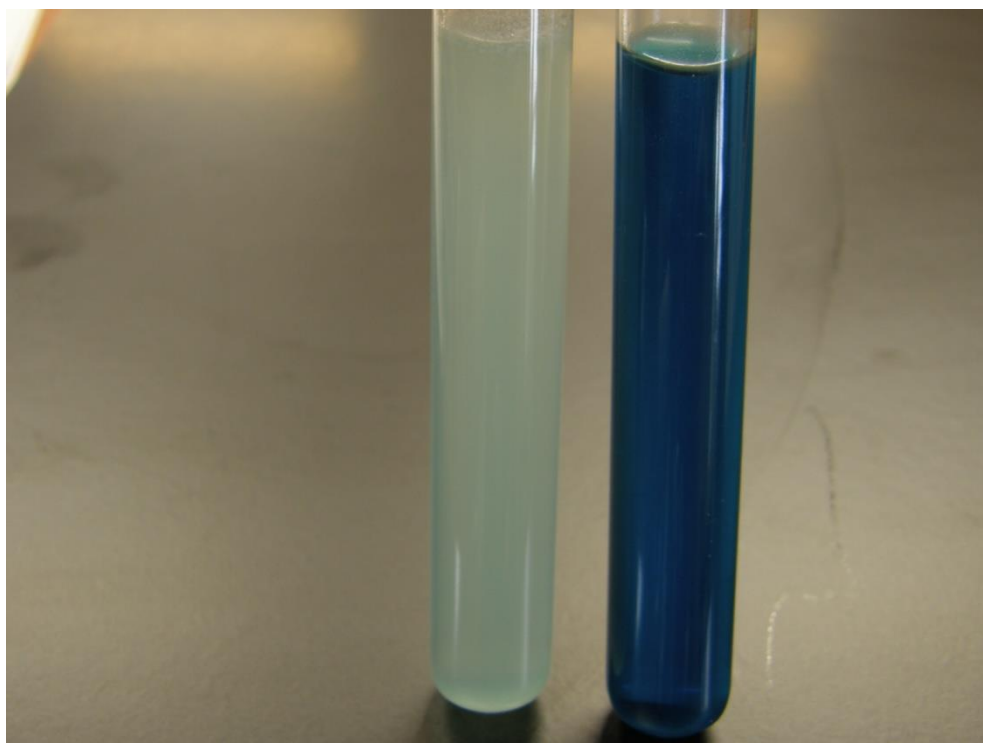
Εικόνα 23: Υλικό B-P με αποικίες παθογενούς και μη παθογενούς σταφυλόκοκκου

2.2.9 Rappaport Vassiliadis (R-V)

Το υλικό R-V αποτελείται από: καζεΐνη, χλωριούχο νάτριο, δισόξινο φωσφορικό κάλιο, χλωριούχο μαγνήσιο, πράσινο του μαλαχίτη (Difco Manual).

Η χρωστική πράσινο του μαλαχίτη που περιέχει το υλικό δεν επιτρέπει να αναπτυχθούν τα Gram + βακτήρια ενώ το χαμηλό pH 5,1 +/- 2 επιτρέπει ουσιαστικά την απομόνωση σαλμονελλών από τα κόπρανα, μόνο των εκτός από τις *S. typhi*, *S. paratyphi* και *S. galinarum – pulorum*.

Η αλλαγή του χρώματος του υλικού από μπλε σε άσπρο μετά από επώαση στους 42°C για 24 ώρες είναι ένδειξη *Salmonella* ή *Shigella* (Εικόνα 24).

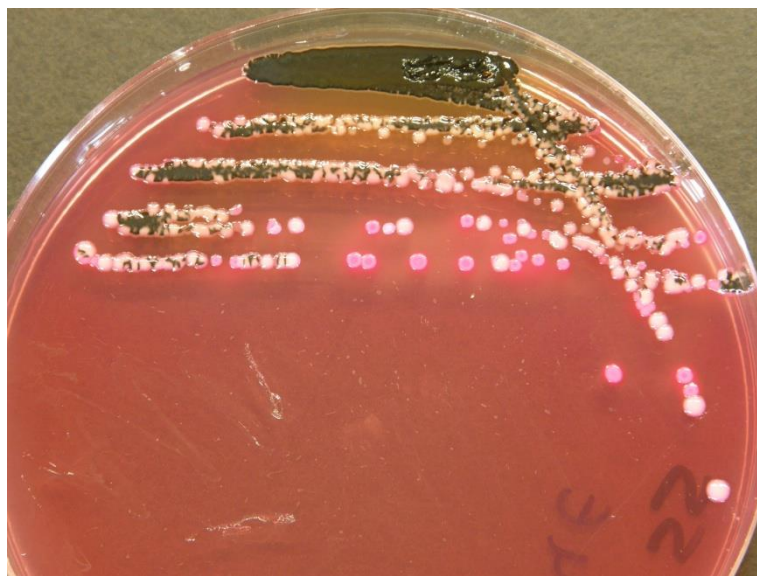


Εικόνα 24: Υλικό R-V και η αλλαγή του χρώματος

2.2.10 Salmonella-Shigella (S.S.)

Το S.S. είναι ένα θρεπτικό υπόστρωμα που αποτελείται από: εκχύλισμα μυός βοδιού , πεπτόνη, λακτόζη, χολικά άλατα no.3, κιτρικό νάτριο, θειοθειικό νάτριο, κιτρικό σίδηρο, άγαρ, Brilliant green, Neutral red (Difco Manual).

Το υλικό αυτό ελέγχει δυο ικανότητες των μικροοργανισμών, την παραγωγή υδρόθειου και την διάσπαση της λακτόζης. Τα βακτήρια που χρησιμοποιούν τη λακτόζη δημιουργούν αποικίες ροζ, κρεμμώδους υφής (*E-coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*), οι μικροοργανισμοί που δεν χρησιμοποιούν την λακτόζη δημιουργούν διαυγείς αποικίες γενικά λείες (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*) ενώ οι μικροοργανισμοί που παράγουν υδρόθειο όπως *Salmonella* και *Proteus* δημιουργούν μαύρες αποικίες (Εικόνα25).



Εικόνα 25: Υλικό SS με χαρακτηριστικές αποικίες

2.2.11 Triple Sugar Iron Agar (T.S.I.)

Το T.S.I. αποτελείται από: εκχύλισμα μυός βοδιού, εκχύλισμα ζύμης, πεπτόνη, δεξτρόζη, λακτόζη, σουκρόζη, θειικό σίδηρο, χλωριούχο νάτριο, θειοθειικό νάτριο, άγαρ και Phenol red (Difco Manual).

Μικροοργανισμοί, οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιήσουν την λακτόζη, προκαλούν μείωση του pH σε όλο το υλικό (T.S.I.). Μικροοργανισμοί που μπορούν να χρησιμοποιήσουν μόνο την δεξτρόζη αλλάζουν το χρώμα στο κάτω μέρος μόνο του σωλήνα, που περιέχει το θρεπτικό υλικό. Ενώ, οι μικροοργανισμοί που μπορούν να παράγουν υδρόθειο δημιουργούν μαύρο ίζημα στο σημείο εμβολιασμού (Εικόνα 26,27).



Εικόνα 26: Υλικό TSI με ανάπτυξη μικροοργανισμών

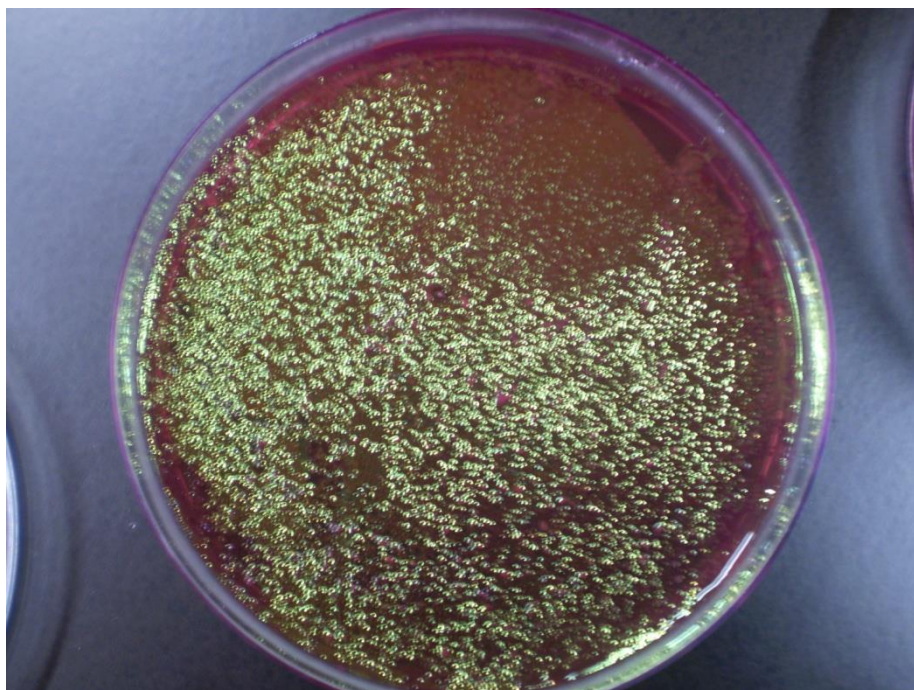


Εικόνα 27: Υλικό TSI, παραγωγή υδρόθειου από το μικροοργανισμό

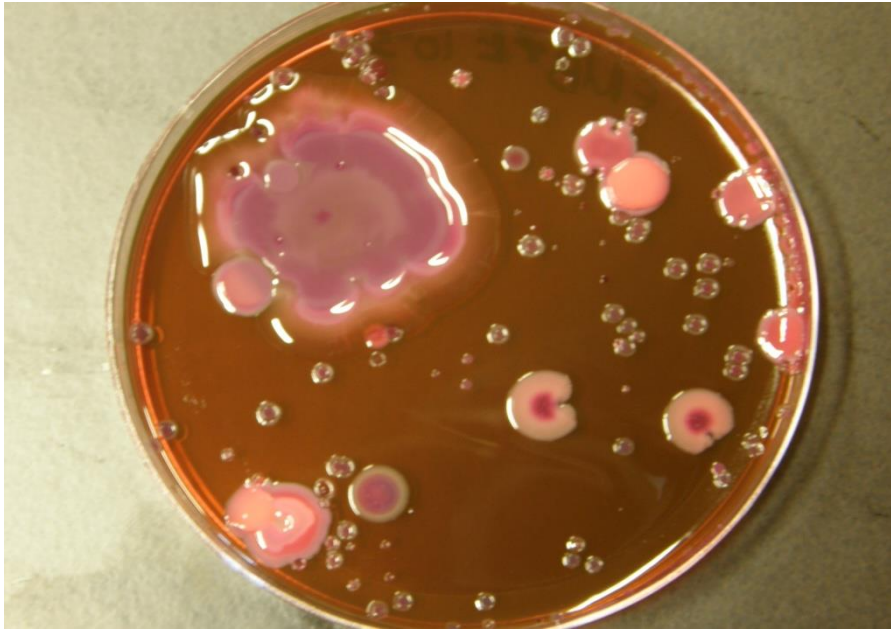
2.2.12 Levine Eosin Methylene Blue Agar (EMB)

Το EMB αποτελείται από: ζελατίνη, λακτόζη, φωσφορικό κάλιο, κυανούν του μεθυλενίου, άγαρ, Eosin Y (Difco Manual).

Το υπόστρωμα αυτό είναι κλασικό για απομόνωση και διαχωρισμό των αποικιών των εντεροβακτηρίων (Gram-), και στηρίζεται στη διαφορετική χρησιμοποίηση της λακτόζης που τα διαχωρίζει σε λακτόζη θετικά (+) και αρνητικά (-) χρησιμοποιώντας τις χρωστικές Κυανούν μεθυλενίου και Eosin Y. Σε αυτό το υλικό η *E-coli* παρουσιάζεται με αποικίες χρώματος πράσινο μεταλλικό (Εικόνα 28), ενώ τα υπόλοιπα βακτήρια που είναι θετικά (+) στη λακτόζη έχουν αποικίες με ροζ χρώμα (Εικόνα 29). Σε αντίθεση τα αρνητικά (-) στη λακτόζη βακτήρια δημιουργούν άχρωμες αποικίες (Εικόνα 30).



Εικόνα 28: Υλικό EMB με χαρακτηριστικές αποικίες της *E-coli*



Εικόνα 29: Υλικό EMB με θετικές και αρνητικές στη λακτόζη αποικίες



Εικόνα 30: Υλικό EMB με άχρωμη αποικία