



Mannitol Salt Agar

Selective medium for isolation and enumeration of staphylococci from clinical samples and other materials, according to USP/EP/JP.

DESCRIPTION

Mannitol Salt Agar is a selective medium used for isolating pathogenic staphylococci from clinical samples, food and other materials of sanitary importance.

This medium is prepared according to recommendations of the harmonized USP/EP/JP method for the detection of *S. aureus* in non sterile pharmaceutical products.

TYPICAL FORMULA	(g/l)
Pancreatic Digest of Casein	5.0
Peptic Digest of Animal Tissue	5.0
Beef Extract	1.0
D-Mannitol	10.0
Sodium Chloride	75.0
Phenol Red	0.025
Agar	15.0
Final pH 7.4 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Pancreatic digest of casein, peptic digest of animal tissue and beef extract provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Mannitol is the fermentable carbohydrate. The high salt content of 7.5% inhibits most bacteria other than staphylococci. Phenol red is the pH indicator. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

<u>Dehydrated medium</u>	Suspend 111 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil for 1 minute shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
<u>Medium in bottles</u>	Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

TEST PROCEDURE

Inoculate plates by the direct streaking of the material to be examined over the agar surface. Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 24-48 hours.

Harmonized USP/EP/JP method for microbiological examination of non sterile products recommends to inoculate the sample in Tryptic Soy Broth (ref. 24444). Subculture on a plate of Mannitol Salt Agar and incubate at 30-35°C for 18-72 hours.

INTERPRETING RESULTS

S. aureus cultivates with yellow or white colonies surrounded by a yellow zone. Confirm by identification tests*. Coagulase-negative Staphylococci form small colorless to red colonies with no color change to the medium

*Suspect colonies can be subcultured to a moderately selective medium such as Baird Parker RPF Agar (ref. 10521, 402210) for the determination of coagulase activity (ISO 6888-2).

APPEARANCE OF THE MEDIUM

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, beige-pink.

Prepared medium: slightly opalescent, pinkish-red.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.
 Medium in bottles: 2 years.
 Ready-to-use plates: 6 months.

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.
 Inoculum for productivity: 10-100 CFU
 Inoculum for selectivity: 10⁴-10⁶ CFU
 Incubation conditions: aerobically at 35 ± 2°C for 24-48 hours.
 *30-35°C for 18-72 h (USP/EP/JP Growth Promotion Testing).

QC Table.

Microorganism		Growth	Specification
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Good	Yellow colonies with yellow zone
<i>Staphylococcus aureus</i> *	ATCC® 6538	Good	Yellow colonies with yellow zone
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC® 12228	Good	Red colonies
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inhibited	---
<i>Escherichia coli</i> *	ATCC® 8739	Inhibited	---

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *in vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

1. European Pharmacopoeia 6.5 (2009). 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
2. United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009). <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
3. Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008). Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
4. ISO 6888-2:1999 + A1:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) – Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium.
5. Kloos, W.E., and T.L. Bannerman (1995) *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Manual of clinical microbiology, 6th ed.
6. Chapman, G.H. (1945) The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bacteriol. 50:201-203.

PRESENTATION		Contents	Ref.
Mannitol Salt Agar	90 mm ready-to-use plates	20 plates	10030
Mannitol Salt Agar	90 mm ready-to-use plates	100 plates	10030*
Mannitol Salt Agar	Bottles	6 x 500 ml bottles	470080
Mannitol Salt Agar	Bottles	6 x 200 ml bottles	412290
Mannitol Salt Agar	Bottles	6 x 100 ml bottles	402290
Mannitol Salt Agar	Dehydrated medium	500 g of powder	610029
Mannitol Salt Agar	Dehydrated medium	100 g of powder	620029
Mannitol Salt Agar	Dehydrated medium	5 kg of powder	6100295

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro</i> Medical Diagnostic Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
 Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net





Mannitol Salt Agar

Terreno selettivo per l'isolamento ed il conteggio di stafilococchi da campioni clinici ed altri materiali, in accordo a USP/EP/JP.

DESCRIZIONE

Mannitol Salt Agar è un terreno selettivo utilizzato per l'isolamento di stafilococchi patogeni da campioni clinici, alimenti ed altri materiali di importanza sanitaria.

Il terreno è preparato secondo il metodo armonizzato USP/EP/JP per la ricerca di *S. aureus* nei prodotti farmaceutici non sterili.

FORMULA TIPICA

	(g/l)
Digerito Pancreatico di Caseina	5.0
Digerito Peptico di Tessuto Animale	5.0
Estratto di Carne	1.0
D-Mannitolo	10.0
Sodio Cloruro	75.0
Rosso Fenolo	0.025
Agar	15.0
pH Finale 7.4 ± 0.2 a 25°C	

PRINCIPIO DEL METODO

Il digerito pancreatico di caseina, il digerito peptico di tessuto animale e l'estratto di carne forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita dei microrganismi. Il mannitolo è il carboidrato fermentabile. La presenza di cloruro di sodio al 7.5% inibisce la maggior parte dei batteri ad eccezione degli stafilococchi. Il rosso fenolo è l'indicatore di pH. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 111 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire per 1 minuto per ottenere la completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
<u>Terreno in flaconi</u>	Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con il tappo leggermente svitato) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare le piastre strisciando il campione da esaminare direttamente sulla superficie dell'agar. Incubare in atmosfera aerobica a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 24-48 ore.

Per l'esame microbiologico dei prodotti non sterili, il metodo armonizzato USP/EP/JP raccomanda di inoculare il campione in Tryptic Soy Broth (ref. 24444). Subcoltivare su una piastra di Mannitol Salt Agar ed incubare a 30-35°C per 18-72 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

S. aureus coltiva con colonie gialle o bianche circondate da un alone giallo. Confermare con test identificativi*. Gli stafilococchi coagulasi negativi formano piccole colonie da incolore a rosse con nessun cambiamento di colore del terreno.

*Le colonie sospette possono essere subcoltivate su un terreno moderatamente selettivo come Baird Parker RPF Agar (ref. 10521, 402210) per la determinazione dell'attività della coagulasi (ISO 6888-2).

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige-rosa.

Terreno preparato: rosastro-rosso, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi e le piastre pronte a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in flaconi: 2 anni.

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 10-100 UFC.

Inoculo per selettività: 10⁴-10⁶ UFC.

Condizioni di incubazione: ambiente aerobico a 35 ± 2°C per 24-48 ore.

*30-35°C per 18-72 ore (USP/EP/JP Growth Promotion Testing).

Tabella CQ.

Microrganismo		Crescita	Specifiche
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Buona	Colonie gialle con alone giallo
<i>Staphylococcus aureus</i> *	ATCC® 6538	Buona	Colonie gialle con alone giallo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC® 12228	Buona	Colonie rosse
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Inibita	---
<i>Escherichia coli</i> *	ATCC® 8739	Inibita	---

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. European Pharmacopoeia 6.5 (2009). 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
2. United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009). <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
3. Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008). Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
4. ISO 6888-2:1999 + A1:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) – Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium.
5. Kloos, W.E., and T.L. Bannerman (1995) *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Manual of clinical microbiology, 6th ed.
6. Chapman, G.H. (1945) The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bacteriol. 50:201-203.

PRESENTAZIONE

		Contenuto	Ref.
Mannitol Salt Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	20 piastre	10030
Mannitol Salt Agar	Piastre da 90 mm pronte all'uso	100 piastre	10030*
Mannitol Salt Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 500 ml	470080
Mannitol Salt Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 200 ml	412290
Mannitol Salt Agar	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml	402290
Mannitol Salt Agar	Terreno disidratato	500 g di polvere	610029
Mannitol Salt Agar	Terreno disidratato	100 g di polvere	620029
Mannitol Salt Agar	Terreno disidratato	5 kg di polvere	6100295

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	IVD In vitro Diagnostic Medical Device	Fabbricante	Utilizzare entro	Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	Non riutilizzare



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net

