



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

- Dehydrated medium 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.
- Medium in bottles 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

- European Pharmacopoeia 6.5 (2009). 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009). <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008). Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- 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.
- Kloos, W.E., and T.L. Bannerman (1995) *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Manual of clinical microbiology, 6th ed.
- 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 ± 2°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

- European Pharmacopoeia 6.5 (2009). 2.6.13 Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- United States Pharmacopoeia 32 NF 27 (2009). <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- Japanese Pharmacopoeia 4.05 (2008). Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms.
- 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.
- Kloos, W.E., and T.L. Bannerman (1995) *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Manual of clinical microbiology, 6th ed.
- 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 <i>In vitro</i> 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

