

MANNITOL SALT AGAR

Terreno selettivo e differenziale, in polvere e pronto
all'uso in piastra e flacone, per l'isolamento degli stafilococchi.

Terreno indicato per la determinazione di *S.aureus* nei prodotti non sterili
con metodo armonizzato EP, USP, JP.

FORMULA TIPICA (g/L)

Idrolisato pancreatico di caseina	5.000
Idrolisato peptico di tessuto animale	5.000
Estratto di carne	1.000
Sodio cloruro	75.000
D-Mannitolo	10.000
Rosso fenolo	0.025
Agar	15.000

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 111 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti.

pH finale 7.4 ± 0.2.

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

In un bagnomaria termoregolato a 100 °C introdurre i flaconi e riscaldare fino ad ebollizione ed a dissoluzione completa. Raffreddare a 45-50 °C e versare in piastre sterili.

pH finale 7.4 ± 0.2.

DESCRIZIONE

Mannitol Salt Agar è un terreno indicato per l'isolamento e l'identificazione presuntiva degli stafilococchi in campioni di origine clinica. Il terreno è indicato per la ricerca di *S.aureus* nei prodotti farmaceutici non sterili con metodo armonizzato EP, USP, JP ed è conforme alle specifiche qualitative ivi riportate.

Mannitol Salt Agar contiene una elevata concentrazione di sodio cloruro (7.5%) che inibisce la crescita di gran parte dei microrganismi, fatta eccezione per gli stafilococchi. La produzione di acidi, dovuta alla fermentazione del mannitolo, provoca una modificazione del pH del mezzo e un viraggio dell'indicatore presente nel terreno (rosso fenolo) da rosso a giallo. Gli stafilococchi patogeni, coagulasi positivi, crescono ottimamente sul terreno dando origine a larghe colonie gialle circondate da un alone giallo. Gli stafilococchi coagulasi negativi crescono in modo meno rigoglioso formando colonie piccole di colore rosso porpora dove la crescita è compatta. Mannitol Salt Agar è raccomandata da EP per la ricerca degli stafilococchi nei prodotti biologici e farmaceutici.

METODO D'IMPIEGO

-Inoculare pesantemente le piastre con il materiale in esame ed incubare a 37 °C o alla temperatura indicata dal metodo normato in uso per 24-48 ore.

-Per il controllo delle acque filtrare su una membrana da 0.45 µm un volume appropriato di acqua in accordo al grado di contaminazione atteso. Trasferire la membrana sul terreno in piastra. Incubare a 37 °C per 24-48 ore.

-Per la determinazione di *S.aureus* nei prodotti farmaceutici non sterili operare come segue:

- Preparare una diluizione 1:10 del campione usando non meno di 1 g o 1 mL di prodotto da esaminare. Con 10 mL di tale diluizione o la quantità corrispondente a 1 g o 1 mL per inoculare un volume adeguato di Tryptic Soy Broth. Incubare a 30-35 °C per 18-24 ore.
- Trapiantare dalla brodocoltura su piastra di Mannitol Salt Agar ed incubare a 30-35 °C per 18-72 ore.
- La possibile presenza di *S.aureus* è indicata dalla crescita su piastra di colonie gialle/bianche circondate da un alone giallo. Il risultato colturale deve essere confermato con test d'identificazione.

Il test è da considerare negativo se nel campione non vi è presenza di colonie con le caratteristiche sopra descritte o se i test d'identificazione risultassero negativi.

Nella tabella sottostante sono indicate le caratteristiche colturali di alcuni microrganismi su Mannitol Salt Agar

<i>S. aureus</i>	larghe colonie gialle circondate da un alone giallo
<i>S.epidermidis</i>	piccole colonie bianche circondate da un alone porpora
<i>P.vulgaris</i>	completamente inibito
<i>E.coli</i>	completamente inibito
<i>Enterococcus faecalis</i>	parzialmente o completamente inibito
<i>Streptococcus pyogenes</i>	completamente inibito

Per una identificazione completa eseguire una subcoltura delle colonie in Brain Heart Infusion Broth e, quando si apprezzi una crescita microbica, eseguire su di essa il test della coagulasi (Coagulase Plasma EDTA cat. n. 429937).

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo Produttività

S.aureus ATCC 25923*: crescita colonie gialle e terreno giallo

Controllo specificità

S.epidermidis ATCC 12228* crescita colonie bianche circondate da un alone porpora

Controllo selettività

P.mirabilis ATCC 12453*: parzialmente inibito

Incubazione a 37°C per 24-48 ore

*Ceppi raccomandati da NCCLS M22-A3

Per il controllo di qualità nel settore farmaceutico fare riferimento alla Farmacopea Europea edizione corrente.

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni Mannitol Salt Agar è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.) Conservare le piastre preparate in laboratorio per un massimo di 1 mese a 2-8°C

Terreno pronto all'uso in flacone ed in piastra: conservare a 2-8°C al riparo della luce, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

I preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni $\geq 1\%$. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di Mannitol Salt Agar deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

I prodotti qui descritti sono solo per uso diagnostico *in vitro* e devono essere usati in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Chapman, G.H. (1945) - J. Bact. 50, 201-203.
- CLSI document M22-A3, 2004. Quality Control of Commercially Prepared Microbiological Media: Approved Standard - Third Edition. Vol. 24 No.19

CONFEZIONI

4016652	Mannitol Salt Agar,	500 g (4.5 L)
4016654	Mannitol Salt Agar,	5 kg (45 L)

Il terreno è disponibile anche in piastre pronte:

541665	MANNITOL SALT AGAR,	20 piastre diametro 90 mm
491665	MANNITOL SALT AGAR,	30 piastre diametro 55 mm

Il terreno è disponibile anche in flaconi pronti:

5116652	MANNITOL SALT AGAR	6 flaconi da 100 mL
5116653	MANNITOL SALT AGAR	6 flaconi da 200 mL

