



Mannitol Salt Agar

Selective medium for isolation and enumeration of staphylococci from clinical and nonclinical specimens.

INTENDED PURPOSE

Selective medium used for isolating pathogenic staphylococci from clinical specimens, food and other materials of sanitary importance. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring further identification tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Mannitol Salt Agar (MSA) is a medium for the selective isolation of staphylococci while allowing differentiation of mannitol fermenting from non fermenting staphylococci.

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/litre)
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	

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

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.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: Autoclave, water bath, sterile Petri plates, test tubes, inoculating loops, swabs, incubator, quality control organisms.

SPECIMENS

Clinical specimens such as faeces, materials from respiratory tract, purulent exudates, wounds, abscesses etc., should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection. Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied. Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

TEST PROCEDURE

Ensure there is no visible moisture on the plates before use.

Inoculate the plates by directly streaking the specimen on the agar surface or spread the sample from an enrichment culture to obtain well-isolated colonies.

Incubate aerobically at $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ for 24-48 h.

Following the harmonized USP/EP/JP method for microbiological examination of non sterile products, inoculate the sample in Tryptic Soy Broth, then subculture on a MSA plate and incubate at $30\text{-}35^{\circ}\text{C}$ for 18-72 hours.

For more details, consult appropriate guidances.

INTERPRETING RESULTS

S. aureus cultivates with yellow or white colonies surrounded by a yellow zone. Confirm by identification tests(*).

Coagulase-negative Staphylococci form small colourless 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 for the determination of coagulase activity (ISO 6888-2).

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at $10\text{-}30^{\circ}\text{C}$, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles and prepared plates at $10\text{-}25^{\circ}\text{C}$ 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

Appearance of Dehydrated Medium: Free-flowing, homogeneous, beige-pink.

Appearance of Prepared Medium: Slightly opalescent, pinkish-red.

Expected Cultural Response:

Control strain		Inoculum	Incubation	Criteria	Specification
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034 (ATCC® 25923; NCTC 12981)	50-100 CFU	24-48 h / $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$	Good growth ($P_R \geq 0.5$)	Yellow colonies with yellow zone
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	WDCM 00036 (ATCC® 12228; NCTC 13360)				red colonies
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00193 (ATCC® 6538; NCTC 10788)		18-72 h / $30\text{-}35^{\circ}\text{C}$		Yellow colonies with yellow zone
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)	$10^4\text{-}10^6$ CFU	24-48 h / $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$	Inhibition	—
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012 (ATCC® 8739; NCTC 12923)		18-72 h / $30\text{-}35^{\circ}\text{C}$	Inhibition	—

A productivity ratio (P_R) of 0.5 is equivalent to a recovery rate of 50%.

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of MSA was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor specimen quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.

Some strains of *S. capitis*, *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. simulans* are mannitol positive and produce yellow colonies surrounded by yellow zones on this medium.

MSA is intended as an aid in the diagnosis of infectious diseases, requiring further tests to complete the diagnostic results. All identification tests should ideally be performed from non-selective agar.

WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
- 2) **For laboratory professional use only.**
- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.
- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

DISPOSAL OF WASTE

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

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

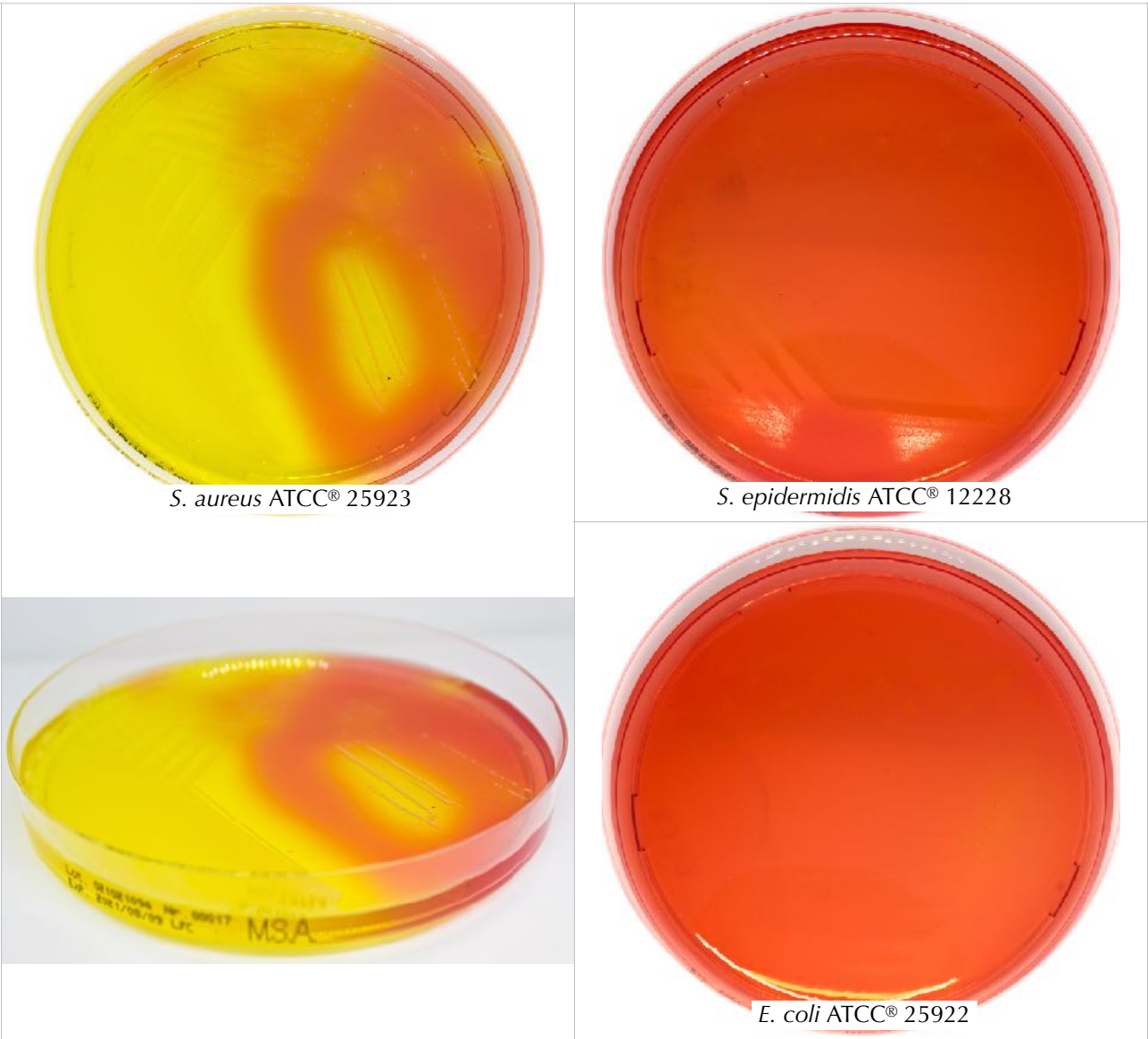
The product is available in the various configurations listed below. There may be additional product ref. numbers as well. For an updated listing of available products, visit liofilchem.com

Product	Format	Packaging	Ref.
Mannitol Salt Agar (MSA)	Plate 90 mm	20 plates	10030
		100 plates	10030*
	Bottle	6 x 100 ml	402290
		6 x 200 ml	412290
		6 x 500 ml	470080
	Dehydrated media	100 g	620029
		500 g	610029
		5 kg	6100295

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
1	2024-01-17	Updated: Layout and content in compliance with IVDR 2017/746 Added: Example photographs

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:
liofilchem.com/ifu-sds





Mannitol Salt Agar

Terreno selettivo per l'isolamento ed il conteggio di stafilococchi da campioni clinici e non clinici.

USO PREVISTO

Terreno selettivo utilizzato per isolare gli stafilococchi patogeni da campioni clinici, alimenti e altri materiali di importanza sanitaria. Il terreno è inteso come ausilio alla diagnosi, e richiede ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Mannitol Salt Agar (MSA) è un terreno per l'isolamento selettivo degli stafilococchi che consente la differenziazione degli stafilococchi fermentanti il mannitolo dagli stafilococchi non fermentanti.

Questo terreno è preparato secondo le raccomandazioni del metodo armonizzato USP/EP/JP per la ricerca di *S. aureus* in prodotti farmaceutici non sterili.

FORMULA TIPICA*

	(g/litro)
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	

*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

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.

PREPARATION

Terreno disidratato

Sospendere 111 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.

Terreno in flaconi

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.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: autoclave, bagnomaria, piastre Petri sterili, provette, anse da inculo, tamponi, incubatore, microrganismi per il controllo qualità.

CAMPIONI CLINICI

I campioni clinici come feci, materiali provenienti dalle vie respiratorie, essudati purulenti, ferite, ascessi ecc., dovrebbero essere prelevati nella fase acuta, prima della terapia antimicrobica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo la raccolta. Dovrebbero essere applicate le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici. Fare riferimento alle linee guida specifiche per maggiori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni.

PROCEDURA DEL TEST

Assicurarsi che non vi sia umidità visibile sulle piastre prima dell'uso

Inoculare le piastre strisciando direttamente il campione sulla superficie dell'agar o eseguire la semina da una coltura di arricchimento cercando di ottenere colonie ben isolate.

Incubare in aerobiosi a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ per 24-48 h.

Seguendo il metodo armonizzato USP/EP/JP per l'esame microbiologico di prodotti non sterili, inoculare il campione nel Tryptic Soy Broth, quindi effettuare una subcoltura su una piastra MSA e incubare a $30-35^\circ\text{C}$ per 18-72 ore.

Per maggiori dettagli, consultare le guide appropriate.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

S. aureus cresce 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 Agar + RPF (rabbit plasma fibrinogen) per la determinazione dell'attività della coagulasi (ISO 6888-2).

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare la polvere a $10-30^\circ\text{C}$, in un ambiente asciutto, nel suo contenitore originale ben chiuso. Conservare i flaconi e le piastre preparate a $10-25^\circ\text{C}$ al riparo dalla luce. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata in etichetta o se il prodotto presenta segni di contaminazione o di deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in flaconi: 2 anni.

Piastre pronte all'uso: 6 mesi.

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto del Terreno Disidratato: Granulometria fine, omogeneo, beige-rosa.

Aspetto del Terreno Preparato: Leggermente opalescente, rosastro-rosso.

Risultati Attesi dei Test Culturali:

Ceppi di controllo		Inoculo	Incubazione	Criteri	Specifiche
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034 (ATCC® 25923; NCTC 12981)	50-100 UFC	24-48 h / 35 ± 2 °C	Crescita buona (P _R ≥ 0.5)	Colonie gialle con alone giallo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	WDCM 00036 (ATCC® 12228; NCTC 13360)				Colonie rosse
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00193 (ATCC® 6538; NCTC 10788)		18-72 h / 30-35 °C		Colonie gialle con alone giallo
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)	10 ⁴ -10 ⁶ UFC	24-48 h / 35 ± 2 °C	Inibizione	—
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00012 (ATCC® 8739; NCTC 12923)		18-72 h / 30-35 °C	Inibizione	—

Un rapporto di produttività (P_R) di 0.5 è equivalente ad un tasso di recupero del 50%.

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I test di performance per Mannitol Salt Agar sono stati effettuati utilizzando i ceppi CQ sopra elencati. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti.

LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da una scarsa qualità del campione, da una raccolta impropria del campione, da un trasporto improprio, da un processamento improprio in laboratorio o da una limitazione della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, compresi i limiti nelle prestazioni, prima delle singole operazioni per evitare potenziali errori.

Alcuni ceppi di *S. capitis*, *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. simulans* sono mannitolo positivi e producono colonie gialle circondate da zone gialle su questo terreno.

MSA è inteso come ausilio nella diagnosi delle malattie infettive, che richiedono ulteriori test per completare i risultati diagnostici. Tutti i test di identificazione dovrebbero idealmente essere eseguiti su agar non selettivo.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) **Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- 4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- 5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- 6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- 7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

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

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Il prodotto è disponibile in diverse configurazioni. Vedere l'elenco nella lingua inglese.

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online:

[liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)

References / Riferimenti

1. ISO 6888-2:2021. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium.
2. Public Health England (2020) UK SMI ID 7 issue 4: Identification of *Staphylococcus* species, *Micrococcus* species and *Rothia* species. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/887570/UK_SMI_ID_07i4.pdf
3. EN ISO 11133:2014+Amd1:2018+Amd2:2020. Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
4. European Pharmacopoeia 10.0 (2020) 2.6.12. Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests. 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specific products.
5. United States Pharmacopoeia 41 NF 33 (2018) <61> Microbiological examination of non-sterile products: Microbial enumeration tests <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specific products.
6. Japanese Pharmacopoeia 17th ed. (2017): 4.05 Microbial limit test I. Microbiological examination of non-sterile products: Total viable aerobic count and II. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products.
7. Kloos, W.E., and T.L. Bannerman (1995) *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Manual of clinical microbiology, 6th ed.
8. Chapman, G.H. (1945) The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bacteriol. 50:201-203.

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice del lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use // Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare



Liofilchem® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

