



BD Mannitol Salt Agar

PRZEZNACZENIE

BD Mannitol Salt Agar służy do selektywnego izolowania gronkowców i wykrywania *Staphylococcus aureus* z próbek klinicznych.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Skład podłoża Mannitol Salt Agar został opracowany przez Chapmana z myślą o różnicowaniu gronkowców koagulazododatnich (np. *Staphylococcus aureus*) i gronkowców koagulazoujemnych.¹ Podłoże jest wykorzystywane do izolowania gronkowców z próbek pochodzenia klinicznego,² z kosmetyków³ oraz w testach limitów mikrobiologicznych.^{4, 5} Podłoże Mannitol Salt Agar zawiera peptony i wyciąg wołowy, stanowiące źródło podstawowych składników odżywczych. Chlorek sodu w stężeniu 7,5% powoduje częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu bakterii innych niż gronkowce. Fermentacja mannitolu, widoczna dzięki zmianie zabarwienia wskaźnika – czerwieni fenolowej, ułatwia różnicowanie gatunków gronkowców. Gronkowce koagulazododatnie (np. *Staphylococcus aureus*) tworzą żółte kolonie z żółtą obwódką podłoża, natomiast gronkowce koagulazoujemne tworzą czerwone kolonie i nie powodują zmiany zabarwienia wskaźnika – czerwieni fenolowej.¹

ODCZYNNIKI

BD Mannitol Salt Agar

Skład* w przeliczeniu na jeden litr wody oczyszczonej

Wyciąg wołowy	1,0 g
Trzustkowy hydrolizat kazeiny	5,0
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	5,0
Chlorek sodu	75,0
D-Mannitol	10,0
Czerwień fenolowa	0,025
Agar	15,0

pH 7,4 ± 0,2

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne zjawiska wskazujące na pogorszenie jakości. Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**.

PRZECHOWYWANIE I DOPUSZCZALNY OKRES PRZECHOWYWANIA

Po otrzymaniu, płytki należy przechowywać w ciemnym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C, w ich oryginalnym opakowaniu izolującym do chwili użycia. Unikać zamrażania i przegrzewania. Posiewu na płytki można dokonywać aż do daty ważności (patrz etykieta na opakowaniu) i inkubować w zalecanych czasach inkubacji.

Płytek z otwartych stosów zawierających po 10 płytek można używać przez okres jednego tygodnia, przechowując w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Na płytki posiewa się próbki reprezentatywne niżej wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**). Płytki inkubuje się w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ w atmosferze tlenowej.

Płytki należy badać po 18–24 i po 48 godz., oceniając stopień wzrostu, wielkość kolonii, zabarwienie i selektywność. Typowa morfologia kolonii:

Szczepy bakteryjne	Wzrost
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Kolonie średniej wielkości, żółte; podłoże żółte
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Kolonie średniej wielkości, żółte; podłoże żółte
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Kolonie niewielkie lub średniej wielkości, białe; podłoże czerwone
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Częściowe (lub całkowite) zahamowanie wzrostu; kolonie bezbarwne; zahamowanie stopniowego wzrostu kolonii
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Całkowite zahamowanie wzrostu
Bez posiewu	Zabarwienie czerwone

PROCEDURA

Dostarczane materiały

Podłoże **BD Mannitol Salt Agar** (płytki **Stacker** o śr. 90 mm). Sprawdzane pod kątem obecności mikroorganizmów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek

Jest to selektywne, różnicujące podłoże dla gronkowców, które można stosować do wszystkich próbek klinicznych (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**). Jest ono także stosowane do materiałów nieklinicznych.

Procedura testowa

Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium. Płytką do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych kultur z próbek zawierających florę mieszaną. Ewentualnie, jeżeli materiał jest posiewany bezpośrednio z wymazówki, należy przetoczyć wymazówkę po niewielkiej powierzchni na krawędzi płytki, a następnie wykonać posiew przez rozprowadzenie po podłożu. Należy wykonać posiew także na podłoże nieselektywne, takie jak Columbia Agar with 5% Sheep Blood, w celu wykrycia innych drobnoustrojów występujących w próbce. Płytki inkubuje się przez 24–48 godz. w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ w atmosferze tlenowej.

Wyniki

Po inkubacji płytki bada się pod kątem obecności kolonii gronkowców. Typowa morfologia kolonii otrzymywanych na podłożu **BD Mannitol Salt Agar**:

Drobnoustroje	Wzrost
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kolonie średniej wielkości, żółte; podłoże żółte
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kolonie niewielkie lub średniej wielkości, białe; podłoże czerwone
Gronkowce inne niż <i>S. aureus</i> i <i>S. epidermidis</i>	Kolonie niewielkie do dużych z czerwonymi lub żółtymi obwódkami, w zależności od gatunku
Ziarenkowce	Duże, białe do pomarańczowych

<i>Enterococcus, Streptococcus</i>	Brak wzrostu lub bardzo niski wzrost
Bakterie Gram-ujemne	Brak wzrostu lub niski wzrost

W celu potwierdzenia identyfikacji kolonii wykazujących cechy typowe dla gronkowców należy przeprowadzić ich dalsze różnicowanie.²

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

BD Mannitol Salt Agar jest standardowym podłożem wykorzystywanym do izolowania i różnicowania gronkowców z próbek pochodzenia klinicznego i nieklinicznego na podstawie ich zdolności fermentowania mannitolu. Zaleca się stosowanie inkubacji trwającej 48–72 godziny, zapewniającej wykrycie wszystkich gatunków gronkowców występujących w próbce.²

Niektóre gatunki *Staphylococcus*, inne niż *S. aureus*, wytwarzają mannitol. Na opisywanym podłożu powstają wówczas żółte kolonie otoczone żółtymi obwódkami (np. *S. capitis*, *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. simulans* i inne gatunki). W związku z tym do identyfikacji *S. aureus* lub innych gatunków konieczne są dodatkowe testy biochemiczne. Należy zapoznać się z odpowiednim piśmiennictwem.^{2,3}

PIŚMIENNICTWO

1. Chapman, G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bacteriol. 50:201-203.
2. Bannerman, T.L. 2003. *Staphylococcus, Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Hitchins, A. D., T. T. Tran, and J. E. McCarron. 1995. Microbiology methods for cosmetics, p. 23.01-23.12. In Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
4. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2009. The U.S. Pharmacopeia 32/The national formulary 27--2009. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md. USA
5. Council of Europe, 2008. European Pharmacopoeia, 6.1. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD Mannitol Salt Agar

Nr katalogowy 254027	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 płytek
Nr katalogowy 254079	Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 120 płytek

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem firmy BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD