BD Mannitol Salt Agar

APPLICATION
La **BD Mannitol Salt Agar** (gélose mannitol-sel) est utilisée pour l'isolement sélectif des staphylocoques et la détection des *Staphylococcus aureus* à partir d'échantillons cliniques.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE
Méthode microbiologique.
La Mannitol Salt Agar est une préparation élaborée par Chapman pour différencier les staphylocoques coagulase positifs (p. ex. *Staphylococcus aureus*) des staphylocoques coagulase négatifs.[1] Elle est utilisée pour isoler les staphylocoques provenant d'échantillons cliniques,[2] de cosmétiques[3] et pour les tests de dénombrement des microorganismes.[4, 5]

Les peptones et l'extrait de bœuf présents dans la Mannitol Salt Agar apportent les éléments nutritifs essentiels. La concentration à 7,5 % du chlorure de sodium entraîne l'inhibition partielle ou complète des organismes bactériens autres que les staphylocoques. La fermentation du mannitol, signalée par un changement de l'indicateur au rouge de phénol, permet de différencier les espèces de staphylocoques. Les staphylocoques coagulase positifs (p. ex. *Staphylococcus aureus*) produisent des colonies de couleur jaune et une coloration jaune du milieu environnant, tandis que les staphylocoques coagulase négatifs produisent des colonies de couleur rouge et aucun changement de teinte de l'indicateur au rouge de phénol.[1]

REACTIFS
BD Mannitol Salt Agar
Formule* par litre d'eau purifiée

Extrait de bœuf	1,0 g
Digestion pancréatique de caséine	5,0
Digestion peptique de tissu animal	5,0
Chlorure de sodium	75,0
D-Mannitol	10,0
Rouge de phénol	0,025
Gélose	15,0

pH 7,4 ± 0,2
*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performance imposés.

PRECAUTIONS
IVD . A usage professionnel uniquement.
Ne pas utiliser les boîtes de Pétri qui montrent des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou tout autre type de détérioration.
Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION
Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé.
Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Inoculer les échantillons représentatifs avec les souches ci-dessous (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber les boîtes de Pétri à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.
Observer les boîtes de Pétri après 18 à 24 puis 48 heures pour mesurer la croissance, la taille des colonies, la pigmentation et la sélectivité. Généralement, les réactions constatées sont les suivantes :

Souches	**Croissance**
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Colonies de taille moyenne et de couleur jaune, milieu de couleur jaune
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Colonies de taille moyenne et de couleur jaune, milieu de couleur jaune
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Colonies de taille petite à moyenne de couleur blanche, milieu de couleur rouge
Proteus mirabilis ATCC 12453	Inhibition partielle à complète, colonies incolores, essaimage inhibé
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibition complète
Non inoculé	Couleur rouge

METHODE

Matériel fourni

BD Mannitol Salt Agar (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produit soumis à contrôle microbiologique.

Matériel non fourni

Les milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types d'échantillons

Ce milieu différentiel sélectif, qui met en évidence les staphylocoques, peut être employé pour tous les échantillons cliniques (voir également la rubrique **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**). Il est aussi employé pour les matériaux non cliniques.

Mode opératoire du test

Diluer l'échantillon par striation dès que possible après réception par le laboratoire. La boîte à striation sert principalement à isoler les cultures pures des échantillons contenant des flores mixtes. Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon depuis cette zone inoculée. Il convient d'ensemencer également un milieu non sélectif tel que la Columbia Agar with 5 % Sheep Blood pour signaler la présence d'autres organismes dans l'échantillon.
Incuber les boîtes de Pétri pendant 24 à 48 heures à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie.

Résultats

Après l'incubation, rechercher sur les boîtes de Pétri la présence de colonies de staphylocoques. Généralement, les colonies isolées sur la **BD Mannitol Salt Agar** présentent la morphologie suivante :

Organismes	**Croissance**
Staphylococcus aureus	Colonies de taille moyenne et de couleur jaune, milieu de couleur jaune
Staphylococcus epidermidis	Colonies de taille petite à moyenne de couleur blanche, milieu de couleur rouge
Staphylocoques autres que *S. aureus* et *S. epidermidis*	Colonies de taille petite à grande avec des zones de couleur rouge ou jaune, selon les espèces
Microcoques	Grande taille, couleur blanche à orange
Enterococcus, Streptococcus	Croissance nulle à très faible
Bactéries Gram-négatives	Croissance nulle à faible

Les colonies qui mettent en évidence la présence de staphylocoques doivent faire l'objet d'une différenciation supplémentaire afin de confirmer leur identité.[2]

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD Mannitol Salt Agar** est une préparation standard servant à l'isolement et à la différenciation, basée sur la fermentation du mannitol, des staphylocoques présents dans les échantillons cliniques et non cliniques. Il est recommandé de respecter des périodes d'incubation de 48 à 72 heures pour détecter toutes les espèces de staphylocoques présentes dans l'échantillon.[2]

Dans ce milieu, plusieurs espèces de *Staphylococcus* autres que *S. aureus* sont positives au mannitol et produisent des colonies de couleur jaune entourées de zones jaunes (p. ex. *S. capitis, S. xylosus, S. cohnii, S. sciuri, S. simulans*, etc.*)*. Par conséquent, des tests biochimiques supplémentaires sont nécessaires à l'identification de *S. aureus* ou d'autres espèces. Consulter les documents de référence appropriés. [2,3]

REFERENCES

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. Yolken (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

CONDITIONNEMENT

BD Mannitol Salt Agar

N° réf. 254027	Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités
N° réf. 254079	Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de 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