
GELOSE DE CHAPMAN AU MANNITOL

DENOMBREMENT DES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Chapman au mannitol permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans les eaux filtrables telles que les eaux de piscine, de consommation humaine ou encore d'établissements de soins. Elle est également utilisée pour la recherche de *Staphylococcus aureus* selon la Pharmacopée et dans les produits cosmétiques.

La formule-type de la gélose répond à la composition définie dans la Pharmacopée européenne et dans la norme NF EN ISO 22718 en Cosmétiques.

2 HISTORIQUE

Les expériences de Koch ont montré que les staphylocoques supportent les milieux hypersalés à 7,5 %. Chapman a confirmé ces premiers résultats en observant que les staphylocoques coagulant le plasma de lapin présentaient des colonies jaunes sur le milieu auquel il a donné son nom, alors que la plupart des autres bactéries étaient inhibées.

3 PRINCIPES

La forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques.

La fermentation du mannitol, mise en évidence par le virage au jaune de l'indicateur pH (rouge de phénol), permet d'orienter le diagnostic.

La mise en évidence des staphylocoques pathogènes devra être confirmée par la recherche de la coagulase notamment.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	5,0 g
- Peptone pepsique de viande	5,0 g
- Extrait de viande	1,0 g
- Mannitol.....	10,0 g
- Chlorure de sodium.....	75,0 g
- Rouge de phénol.....	25,0 mg
- Agar agar bactériologique	15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,4 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 111,0 g de milieu déshydraté (BK030) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

✓ **Reconstitution :**
111,0 g/L

✓ **Stérilisation :**
15 min à 121 °C

- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles (Ø 55 mm ou 90 mm selon l'application) et laisser solidifier sur une surface froide.

6 MODE D'EMPLOI

Détection de *Staphylococcus aureus* (Pharmacopée, NF EN ISO 22718)

- Faire sécher les boîtes de 90 mm à l'étuve, couvercle entrouvert.
- A la surface du milieu préparé en boîtes, transférer 0,1 mL de l'inoculum.
- Étaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 30-35 °C pendant 18 à 24 heures.

✓ **Ensemencement :**
0,1 mL en surface

✓ **Incubation :**
18-24 h à 30-35 °C

Contrôle des eaux par filtration sur membranes :

- Filtrer stérilement sur membrane, un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes préparées ou du milieu pré-coulé (BM148), non séchées, déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à (36 ± 2) °C pendant (44 ± 4) heures.

✓ **Ensemencement :**
Filtration sur membrane

✓ **Incubation :**
44 h à 36 °C

7 LECTURE

Dénombrer les colonies caractéristiques.

Les staphylocoques pathogènes (dont *Staphylococcus aureus*) forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol.

Les staphylocoques non pathogènes forment en général de petites colonies rouges qui ne modifient pas la teinte du milieu.

Quelques souches de *Staphylococcus epidermidis* sont capables de fermenter le mannitol.

Après 24 heures à 48 heures d'incubation, quelques souches d'entérocoques, de *Bacillus*, de *Micrococcus* et de *Serratia* peuvent cultiver.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre rosée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rouge.

Réponse culturale après 18-24 heures d'incubation à 30-35 °C

Microorganismes		Croissance Rapport de productivité P_R	Caractéristiques
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00032	$P_R \geq 50 \%$	Colonies jaunes
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	$P_R \geq 50 \%$	Colonies jaunes
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	WDCM 00036	Bonne, score 2	Colonies roses
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu pré-coulé : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en flacons (*) : 180 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé en boîtes (*) : 30 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK030HA

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 55 mm) :

Coffret de 20 boîtes BM14808

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Chapman, G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bacteriol., 50: 201.

Chapman, G.H. 1948. An improved Stone medium for the isolation and testing of food poisoning *staphylococci*. Food Research, 13: 100-105.

NF EN ISO 22718. Septembre 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Staphylococcus aureus*.

Pharmacopée européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : CHAPMAN_FR_V9

Date création : 04-2001

Date de révision : 08-2016

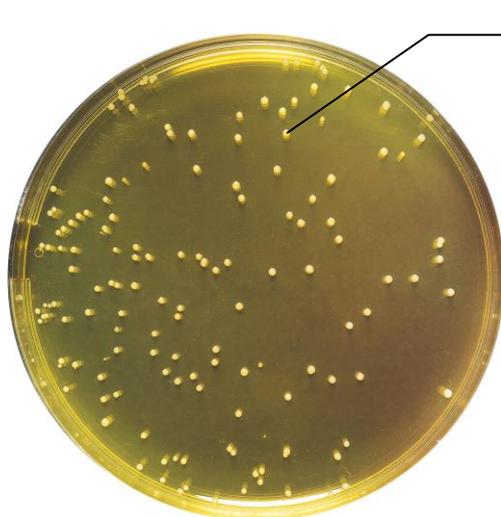
Motif de révision : Révision générale.

Gélose de Chapman au mannitol

Détection et dénombrement des Staphylocoques pathogènes.

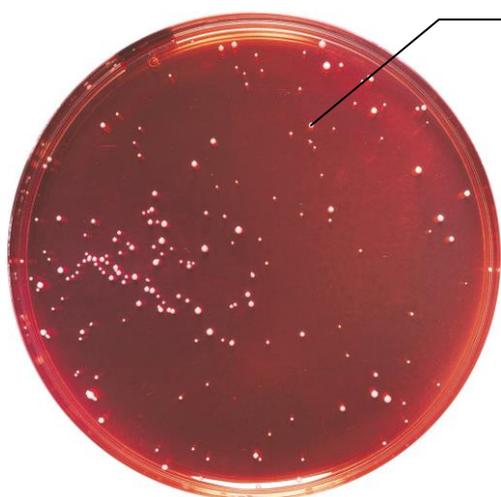
Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37 °C (ensemencement en surface).



Staphylococcus aureus

Colonie caractéristique :
couleur jaune sur fond jaune ou
entourée d'un halo jaune



Staphylococcus epidermidis

Colonie non caractéristique :
couleur blanche sur fond rouge