

FICHE TECHNIQUE

GELOSE DE CHAPMAN AU MANNITOL

RECHERCHE DES STAPHYLOCOQUES PATHOGENES

1 DOMAINES D'UTILISATION

La gélose de Chapman au mannitol permet la recherche de *Staphylococcus aureus* dans les produits pharmaceutiques. La formule-type de la gélose répond à la composition définie dans les Pharmacopées européenne (EP), américaine (USP) et japonaise (JP).

Elle est également utilisée pour l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans les produits cosmétiques et eaux filtrables, telles que les eaux de piscine, de consommation humaine ou encore d'établissements de soins.

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, notamment par la recherche de la coagulase.

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 (\varnothing 55 mm ou 90 mm selon l'application) et laisser solidifier sur une surface froide.

6 MODE D'EMPLOI

Détection de *Staphylococcus aureus* (Pharmacopées)

- 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.
- Etaler l'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur stérile.
- Incuber à 30-35 °C pendant 18 à 72 heures.

✓ Ensemencement :
0,1 mL en surface

✓ Incubation :
18-72 h à 30-35 °C

Contrôle des eaux par filtration sur membrane :

- Filtrer stérilement sur membrane, un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes préparées, 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 jaunes/blanches, luxuriantes, 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.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre de couleur crème à rosée, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rouge.

Réponse culturelle à 30-35 °C (Pharmacopée harmonisée EP, USP & JP)

Microorganismes	Croissance Rapport de productivité P_R	Caractéristiques
<i>Staphylococcus aureus</i> ¹	$P_R \geq 50\ %$	Colonies blanches à jaunes entourées d'une zone jaune
<i>Escherichia coli</i> ²	Inhibée, score 0	-

(¹) Après 18 heures d'incubation (inoculum $\leq 10^2$ microorganismes)

(²) Après 3 jours d'incubation (inoculum $\geq 10^2$ microorganismes)

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °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

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 poisonning *staphylococci*. Food Research, 13: 100-105.
- Pharmacopée européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiés.
- The United States. Chapter <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products.
- The Japanese Pharmacopoeia. Chapter 4.05 Microbial Limit Test II. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified products.

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_v12(fr)

Date création : 04-2001

Date de révision : 05-2025

Motif de révision : Revue générale.

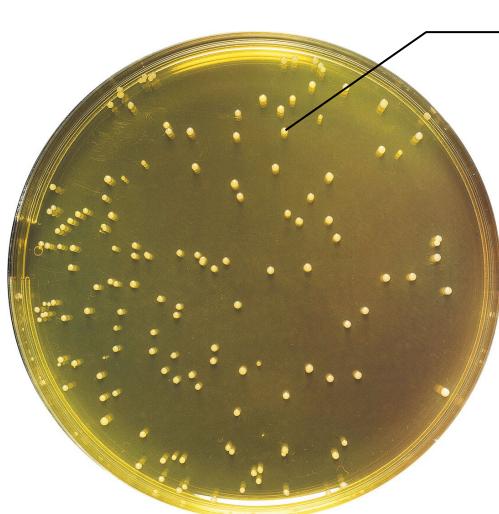
ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

Gélose de Chapman au mannitol

Détection et dénombrement des Staphylocoques pathogènes.

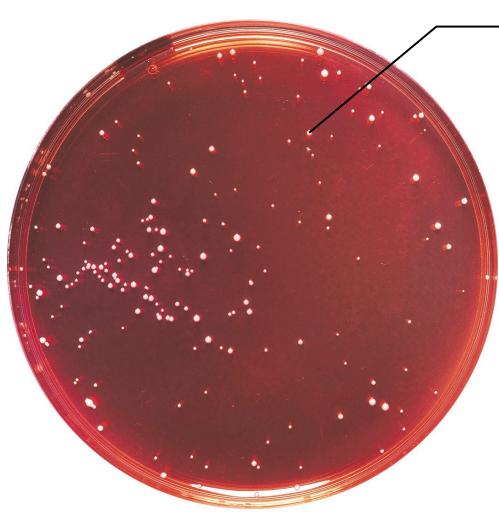
Lecture :

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