

Chapman Mannité milieu gélosé (IV)

355-3647
355-3648/356-3844
356-3926/356-4134

DOMAINE D'APPLICATION

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des *Micrococcaceae* (y.c. Staphylocoques pathogènes) lors de l'analyse des eaux de piscine.

Equivalent USP 30/NF 25 : Milieu IV

REFERENCE(S)

USP 30/NF 25 U.S. Pharmacopeia and National Formulary (2007) : Microbial Limit Tests (61) - Microbiological Tests

PRINCIPE

Le principe du milieu repose sur l'aptitude de la plupart des Staphylocoques pathogènes et des *Micrococcaceae* à fermenter le mannitol (auréole jaune autour des colonies due au virage de l'indicateur coloré).

Le milieu est rendu inhibiteur vis-à-vis des autres bactéries par la forte concentration en chlorure de sodium.

PRESENTATION

• Précoulé

20 boîtes x 90 mm
10 boîtes x 55 mm

code 356-3844
code 356-3926

• Prêt à l'emploi

200 ml x 6 flacons
10 ml x 25 tubes

code 355-3647
code 355-3648

• Déshydraté

500 g

code 356-4134

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Précoulé : +2-20°C
- Prêt à l'emploi : +2-8°C
- Déshydraté : +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Peptone bactériologique	10 g
Extrait de viande de bœuf	1 g
Chlorure de sodium	75 g
Mannitol	10 g
Rouge de phénol	25 mg
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25 °C) final = 7,5 ± 0,2

NB : Des adaptations de la formule ont pu être réalisées afin d'atteindre les critères de performance requis.

AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) (NON FOURNI(S))

- Diluant(s)
- Eau distillée

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Flacons de 200 ml en Pyrex avec bouchons autoclavables
- Boîtes de Pétri stériles (Ø = 90 mm et 55 mm)
- Appareil de filtration
- Membranes filtrantes (Ø = 47mm et ≤ 0,45 mm)
- Pinces pour manipuler les membranes
- Bain-marie avec une précision de ±1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ±1°C
- Autoclave
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 111 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Répartir à raison de 200 ml par flacon ou de 20 ml par tube et stériliser à l'autoclave à 121°C ± 1°C pendant 15 minutes.

Couler en boîtes de Petri et laisser sécher.

Taux de reconstitution : 111 g/l
500 grammes de poudre permettent de réaliser 4,5 litres de milieu.

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

- Méthode par filtration sur membrane :
Filtrer 100 ml d'échantillon et déposer la

Chapman Mannité milieu gélosé (IV)

membrane à la surface d'une boîte de Pétri préalablement coulée et séchée.

- Méthode par ensemencement en surface :

Ensemencer 0,1 ml de l'échantillon à analyser ou de ses dilutions décimales et étaler.

Dans les deux cas, incuber à 37°C ± 1°C pendant 48 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Dénombrer les différents types de colonies blanches ou jaunes entourées d'un halo jaune, en éliminant les grosses colonies muqueuses qui correspondent à des bactéries du genre *Bacillus*.

Pour chaque type de colonies, réaliser un prélèvement et une coloration de Gram : considérer comme *Micrococcaceae* les colonies formées par des Cocci Gram +.

Pour le dénombrement des Staphylocoques pathogènes, prélever une colonie de chaque type (préalablement identifiée aux *Micrococcaceae*) et repiquer sur bouillon Cerveau-cœur (code 355-3664). Après 24 heures d'incubation à 37°C, réaliser un test coagulase sur plasma de lapin (code 355-6352).

Considérer comme Staphylocoques pathogènes toutes les colonies identifiées comme *Micrococcaceae* et qui possèdent en plus une coagulase pour le plasma de lapin.

PRECAUTION D'EMPLOI

Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

CONTROLE QUALITE

Au regard des travaux préalables à l'harmonisation des pharmacopées actuellement en cours, nous vous recommandons de vous reporter aux certificats de contrôle pour connaître les modalités mises en oeuvre pour le contrôle de la qualité (performance et sélectivité) des milieux de culture fabriqués par Bio-Rad.

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

MOTS CLES

Chapmann

mannité/*Micrococcaceae*/Staphylocoques

pathogènes/Eaux

de piscine/Recherche/Dénombrement/Mannitol/Milieu

BIBLIOGRAPHIE

• **CHAPMAN G.H. (1948)** : An improved stone medium for the isolation and testing of food poisoning Staphylococci. Food Research **13** : 100-105

• **CHAPMAN G.H. (1945)** : The significance of sodium chloride in studies of Staphylococci. Journal of bacteriology **50** : 201