

mikrobiologie labor technik

# Chapman Agar

## PRINCIPIU

**Agarul Chapman (Mannitol Salt Agar)** este folosit pentru izolarea selectivă și identificarea stafilococilor în toate tipurile de probe. Acest mediu este în conformitate cu formula descrisă de Chapman și conține o cantitate mare de clorură de sodiu (75g/l), inhibând creșterea majorității florii de interferență (excepție *Bacillus*, *Corynebacterium* și *Streptococcus faecalis*).

Sinteza de acid care rezultă din fermentarea manitolului provoacă schimbarea culorii indicatorului de pH, roșu de fenol, de la roșu la galben. Stafilococii patogeni, coagulazopozitivi cresc în colonii mari, înconjurată de un halou galben. Coloniile de stafilococi coagulazonegativi sunt mici și nu determină schimbarea culorii mediului. Se întrebuintează doar *in vitro*.

## FORMULA TIPICĂ

Componente	g/l
Triptonă	5.00
Extract peptic de țesut animal	5.00
Extract de carne	1.00
Manitol	10.00
Clorură de sodiu	75.00
Roșu fenol	0.025
Agar	15.00
pH final: 7.4 ± 0.2 la 25°C	

## METODA

Se suspendă 111 grame de pulbere într-un litru de apă purificată. Se fierbe sub omogenizare constantă până la dizolvarea completă. Se toarnă în tuburi sau flacoane. Se autoclavează 15 minute la 121°C.

## PROCEDURA

Se lichefiază mediul în apă fierbinte, se răcește apoi la 45-50°C (în conformitate cu specificațiile standard) într-o a doua baie de apă. Se toarnă mediul în plăci Petri, lasând plăcile pe o suprafață orizontală.

### Bacteriologie medicală:

Se însămânțează suprafața plăcii cu proba. Se întorc plăcile invers înainte de incubare la 36 ± 2°C. Culturile se examinează în general după 24 până la 48 de ore de la incubare.

### Metoda armonizată a farmacopeei:

Se însămânțează o placă de Chapman cu proba îmbogățită. Se întorc plăcile invers înainte de incubare la 32.5 ± 2.5°C pentru 18 până la 72 de ore.

### Analize de apă : (în conformitate cu standardul francez)

Se filtrează o probă cu un volum corespunzător printr-o membrană cu porii de 0.45μm. Se transferă membrana pe o placă cu Chapman. Nu trebuie să existe aer între membrană și agar. Se întoarce placa invers înainte de incubarea la 36 ± 2°C timp de 44 ± 4 ore.

## REZULTATE

Stafilococii patogeni cresc în colonii abundente, producându-și propriul lor pigment. Aceste colonii sunt înconjurată de un halou galben, ca urmare a fermentării manitolului.

Stafilococii nepatogeni cresc în principal sub forma unor colonii mici și roșii.

## PROPRIETĂȚI

Temperatura de incubare a agarului este aleasă în conformitate cu procedura și reglementările în vigoare. Tulpinile de

*Staphylococcus epidermidis* sunt capabile de fermentarea manitolului. În aceste circumstanțe este esențială efectuarea unor investigații suplimentare referitoare la sinteza liberă de coagulază și/sau de proteină A, la factorul de coagulare sau chiar testul de ADN-ză.

## **PRECAUȚII**

Este important a nu se usca mediul într-un incubator, din moment ce acest lucru ar putea determina creșterea concentrației de NaCl, făcând mediul selectiv.

## **BIBLIOGRAFIE**

1. Chapman G.H. 1945. Semnificație clorurii de sodiu în studiile despre stafilococi. J. Bact. 50:201-203.
2. Chapman G.H. 1948. Mediul Stone îmbunătățit pentru izolarea și testarea

stafilococilor care alterează alimentele. 13:100-105.

3. Farmacopeea Statelor Unite.
4. Farmacopeea Europeană, ediția 6.
5. Standardul XF T90-412: iunie 2006 – Calitatea apei: Cercetarea și denumirea stafilococilor patogeni – Metoda prin filtrare pe membrană.

## **AMBALARE**

### **Mediul deshidratat**

(A se păstra între 1-30°C)

140118A: Flacon de 500 g

140118L: Flacon de 500 g

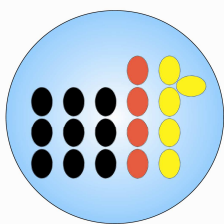
### **Mediul gata preparat**

(A se păstra între 2-25°C)

110118: Cutie cu 20 de plăci de 90 mm Ø

130118: Cutie cu 3 sticle de 200 ml

120176: Cutie cu 32 tuburi de 7 ml



mikrobiologie labor technik

# Chapman Agar

## PRINCIPLE

### Chapman Agar (Mannitol Salt Agar)

is used for the selective isolation and identification of Staphylococci in all types of samples. This medium is compliant with the formula described by Chapman, it contains a high level of Sodium Chloride (75 g/l) which inhibits the growth of most interfering flora (except a few *Bacillus*, *Corynebacterium* & *Streptococcus faecalis*). Acid productions resulting from the mannitol fermentation cause a colour change of the pH indicator, phenol red, from red to yellow. Pathogen Staphylococci, coagulase positive, grow as large colonies surrounded by a yellow halo. Staphylococci coagulase negative colonies are small and do not cause a change of colour.

## FORMULA

Components	g/l
Tryptone	5.00
Peptic digest of animal tissue	5.00
Meat extract	1.00
Mannitol	10.00
Sodium chloride	75.00
Phenol red	0.025
Agar	15.00
Final pH : 7.4 ± 0.2 at 25°C	

## METHOD

Suspend 111 grammes of powder in one litre of purified water. Bring to the boil under constant homogenisation until completely dissolved. Dispatch in tubes or flasks. Autoclave 15 minutes at 121°C.

## PROCEDURE

Liquefy the medium in boiling water then cool it to 45-50°C (according to standard

specifications) in a second water bath. Pour the medium into sterile Petri plates, let the plates set on an horizontal surface.

### Medical bacteriology:

Inoculate the surface of the plate with the specimen. Turn the plates upside-down before incubating them at 36 ± 2°C. Cultures are examined generally after 24 to 48 hours incubation.

### Harmonized method of pharmacopoeias:

Inoculate a plate of Chapman with the enriched sample. Turn the plate upside-down then incubate it at 32.5 ± 2.5°C for 18 to 72 hours.

### Water analyses: (According to a French standard)

Filter the appropriate volume of sample onto a membrane with 0.45µm pores. Transfer the membrane onto the Chapman plate. Take care not to capture air between the membrane and the agar. Turn the plate upside-down before incubating at 36 ± 2°C for 44 ± 4 hours.

## RESULTS

Pathogen Staphylococci grow as luxuriant colonies that produce their own pigment. These colonies are surrounded by a yellow halo due to mannitol's fermentation. Non pathogen Staphylococci grow mainly as small red colonies.

## REMARKS

The temperature of incubation of the agar is chosen according to procedure and current regulations. *Staphylococcus epidermidis* strains are able to ferment mannitol. Under those circumstances it is essential to carry out further investigation by look for example for the production of free coagulase and/or the A protein, clumping factor or even Dnase test.

## **PRECAUTIONS**

It is important not to dry the medium in an incubator since this might increase the sodium chloride concentration making the medium to selective.

## **BIBLIOGRAPHY**

1. Chapman G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bact. 50:201-203.
2. Chapman G.H. 1948. An improved Stone medium for the isolation and testing of food poisoning staphylococci. Food Research, 13:100-105.
3. The United States Pharmacopeia.

4. European Pharmacopoeia 6th edition.
5. Norme XF T90-412 : juin 2006 - Qualité de l'eau : Recherche et dénombrement des staphylocoques pathogènes- Méthode par filtration sur membrane.

## **PACKAGING**

### **Dehydrated medium**

**(To be stored between 1 and 30°C)**

140118A: Flask of 500 g

140118L: Flask of 500 g

### **Ready to use medium**

**(To be stored between 2 and 25°C)**

130118: Pack of 3 flasks of 200 ml

110118: Pack of 20 plates of 90 mm Ø

120176: Pack of 32 tubes of 7 ml