

Protocole de TP

L'antibiogramme : observer la sensibilité des bactéries à divers antibiotiques

► **Matériel :** *(ce TP doit se préparer la veille)*

- bactéries
- antibiotiques sous la forme de pastilles
- milieu Columbia
- bec électrique ou bunsen
- boîtes de Pétri
- inoculateur

Les bactéries sont déposées en conditions stériles sur un milieu gélosé. Les antibiotiques déposés sur la gélose diffusent autour des pastilles et forment des gradients de concentration.

La sensibilité/résistance des bactéries sera évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition de croissance autour des pastilles.

► **Protocole :**

1. Préparation des boîtes de Pétri (la veille) :
 - faire fondre la gélose et couler les boîtes de Pétri.
2. Préparation des suspensions de bactéries (quelques minutes avant le début du TP) :
 - mettre en suspension les bactéries.
 - récupérer une ou deux colonies et les placer dans un milieu liquide.
 - agiter pour mettre en suspension les bactéries.

3. Ensemencement des boîtes de Pétri avec les souches bactériennes (en condition stériles à proximité d'un bec bunsen) :
 - déposer 1mL de suspension bactérienne sur la gélose.
 - tourner la boîte de Pétri pour répartir le liquide à la surface de la gélose.
4. Dépôt des pastilles d'antibiotiques (en condition stériles à proximité d'un bec bunsen) :
 - déposer à la pince stérile un disque de chaque antibiotique de manière espacée.
5. Mise en culture :
 - mettre à pousser 48 h à l'étuve entre 25 et 35 °C. Conserver au froid ensuite pour lecture des résultats la semaine suivante.
6. Lecture des résultats (une semaine après) :
 - mesurer le diamètre du cercle situé autour du disque avec antibiotique correspondant à la zone d'inhibition de croissance des bactéries.
 - plus le diamètre est petit et plus la souche bactérienne est résistante à l'antibiotique.
 - plus le diamètre est grand et plus la souche est sensible.

► **Consignes de sécurité :**

Manipuler en conditions stériles et bien se laver les mains avant et après manipulation. Détruire les colonies bactériennes et décontaminer les ustensiles utilisés après usage (javel, eau oxygénée, UV, autoclave...).

Alternative : il est aussi possible d'utiliser des produits de substitution.