

TP n°22 TP Antibiotiques

Détermination de la CMI et de la CMB en milieu liquide

Souches à étudier : - E. coli
- Staph. Aureus
- E. faecalis

Antibiotiques testés : - Chloramphicol

Détermination de la CMI :

1. Préparation de l'inoculum : réaliser une suspension 0,5 McFarland dans 5mL d'eau stérile. Diluer cette suspension au 1/1000^{ème} en milieu Mueller-Hinton (une anse de 10µL dans 10mL).
2. Préparation de la gamme d'antibiotiques en microplaque :
Répartir 50µL de milieu Mueller Hinton stérile par puits sur les lignes A, B, D, E, G et H.
Réaliser les gammes de dilution des antibiotiques, en cascade, de raison 1/2 en partant de la cupule 3.
Réfléchir à la composition des cupules 1 et 2 qui doivent être respectivement un témoin (-) et un témoin (+) de la croissance de la bactérie.
3. Inoculation de la microplaque :
Ajouter 50µL de l'inoculum préparé en 1- dans chaque puits à partir de la cupule 2.
4. Mettre à incuber 24h à 37°C

Préparation pour la détermination de la CMB :

1. Préparation des dilutions de l'inoculum : Effectuer une gamme de dilution de raison 1/10 de l'inoculum préparé pour la CMI. (1mL dans 9mL d'eau stérile). Diluer jusqu'à 10⁻⁴.
2. Ensemencer une gélose Mueller Hinton par 5 stries (1 par dilution) avec une anse calibrée de 10µL.

Attention : les stries doivent être calibrées (environ 6cm), régulièrement espacées sur la boîte et il faut prendre soin vider totalement l'anse, avec un geste calibré (5-6 passages). Commencer par la plus grande dilution et n'utiliser qu'une seule anse.