

Fiche protocole : Réaliser un antibiogramme

Principe de l'antibiogramme et résultats de l'antibiogramme chez l'enfant du document 1 :

L'antibiogramme permet de connaître les antibiotiques efficaces lors d'un traitement pour lutter contre la souche bactérienne responsable de la pathologie étudiée.

Bien que des techniques automatisées existent, des laboratoires continuent de réaliser la technique manuelle par diffusion en milieu gélosée.

Le médecin connaît le champ d'action des antibiotiques donc pour traiter une infection bactérienne, il choisit le traitement le plus efficace.

Mais le spectre d'action d'un antibiotique n'est valable que pour une souche bactérienne sauvage. Chez certains patients et notamment en milieu hospitalier, les infections peuvent être provoquées par des souches mutantes qui sont résistantes à un ou plusieurs antibiotiques normalement actifs.

Pour réaliser l'antibiogramme, la bactérie responsable de la pathologie est prélevée chez le patient (pus, crachat, mucus...), isolée puis mise en culture sur un milieu adapté. Elle est mise en contact de plusieurs antibiotiques (contenus dans de petits disques imbibés) normalement efficaces.

Après incubation, il est possible d'évaluer l'efficacité de chaque antibiotique en prenant en compte le diamètre de la zone d'action de chaque antibiotique, zone sans bactérie. Plus le diamètre est important et plus l'action de l'antibiotique est forte.

Ici, seuls des produits de substitution seront utilisés car la manipulation de souches de microorganismes ne doit se faire que dans des conditions bien contrôlées et l'exposition à des antibiotiques contribue au développement de souches résistantes. Il y en a bien assez comme cela sans que toutes les 1ères S de tous les lycées de France exposent des bactéries à des antibiotiques.

I- Réaliser la gélose, milieu nutritif de croissance des bactéries

1. Peser dans la coupelle 0,4g d'Agar prélevés à l'aide de la spatule (ne pas oublier de faire le zéro = tare)
2. Verser 28mL d'eau distillée puis l'Agar dans le bêcher et mélanger soigneusement l'Agar avec la spatule
3. Chauffer le mélange en remuant à la spatule jusqu'à ce que le mélange devienne limpide **et arrêter au tout début de l'ébullition.**
4. Retirer à l'aide de la pince en bois et attendre quelques secondes pour manipuler le bêcher sans se brûler
5. Lorsque la gélose est légèrement refroidie mais pas encore solidifiée, ajouter environ 10 gouttes de rouge neutre et bien mélanger.
6. Verser directement et délicatement ce volume d'agar chaud dans la boîte de Pétri
7. Egaliser le niveau et supprimer rapidement les bulles
8. Laisser la boîte refroidir sur la paille sans mettre le couvercle et sans la remuer avant prise du gel d'Agar : environ 5 mn

La couleur orange représente la présence de bactéries

Appeler le professeur pour vérifier la solidification

II- Dépôt des 5 antibiotiques sur la gélose

1. Sous la boîte, noter la première lettre de chaque antibiotique à l'emplacement prévu (voir modèle ci-contre).
2. A l'aide de la pince, tremper un disque dans un antibiotique, enlever l'excédent de liquide sur le bord du tube puis le déposer au bon emplacement sur la gélose.

Tube 1 : Erythromycine

Tube 2 : Pénicilline

Tube 3 : Céfotaxime

Tube 4 : Amoxicilline

Tube 5 : Vancomycine

3. Rincer la pince au-dessus du bêcher et l'essuyer.

4. Faire de même pour chaque antibiotique puis fermer le couvercle.

Dans des conditions réelles, la boîte est placée à 37°C pendant 48H pour que les bactéries se multiplient. Dans notre cas, les résultats peuvent se lire après 10 minutes environ.

Le cercle rose correspond à une zone sans bactérie. L'efficacité de l'antibiotique est proportionnelle au diamètre du cercle.

