

## TP. N°03: EFFET DES ANTIBIOTIQUES SUR LA CROISSANCE BACTERIENNE

### (SENSIBILITE aux ANTIBIOTIQUES / ANTIBIOGRAMME)

#### 1. Introduction

Un certain nombre des facteurs physico-chimiques externes peuvent intervenir dans le développement des microorganismes. La variation de certains entre eux (pH du milieu, la température, oxygène, antiseptiques, antibiotiques, hormones, vitamines, eau, pression osmotique, ...) peut accélérer, retarder, ou arrêter la croissance microbienne. Nous étudions dans cette séance l'influence des antibiotiques sur la croissance bactérienne. Selon l'effet des antibiotiques, on détermine :

1. **Antibiotique bactéricide** : capable de tuer la bactérie ;
2. **Antibiotique bactériostatique** : inhibe la bactérie seulement et ne la tue pas.

#### 2. Objectifs

- 1- Connaitre les deux notions: antibiotique et antibiogramme et son intérêt ;
- 2- Réaliser un antibiogramme standard (méthode de diffusion) *in vitro*.

#### 3. Définition

L'**antibiogramme** est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une **bactérie** à différents antibiotiques.

Un **antibiotique** est un composé chimique, élaboré par un micro-organisme ou produit par synthèse et dont l'activité spécifique se manifeste à dose faible sur les microorganismes.

#### 4. Principe général

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode des disques, la culture bactérienne est ensemencée à la surface de la gélose de Mueller-Hinton. Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir du disque et réagit avec la bactérie. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque permet l'estimation de l'effet de l'antibiotique utilisé sur la bactérie étudiée.

#### 5. Matériel par groupe

- Boîtes Pétri ensemencées par *Escherichia coli* ;
- Disques de celluloses imprégnés d'antibiotique / OU disques d'antibiotique;
- Boîte de Pétri vides + gélose MH (Mueller-Hinton) stérile et en surfusion ;
- Eau physiologique stérile ;
- Pipette Pasteur ;
- Râteau / Ecouvillon ;
- Pince stérile ;
- Bec Bunsen ;
- Micropipette + points
- Eau de Javel ;
- Etuves à 37°C.

**Module : Physiologie bactérienne**

**6. Mode opératoire**

Pour étudier l'effet des antibiotiques sur la croissance bactérienne, on réalise la méthode d'antibiogramme (diffusion sur gélose) comme suit :

- Couler la gélose MH dans la boîte de Pétri;
- Laisser prendre en masse ;
- Préparer la suspension bactérienne (eau physiologique + bactérie) ;
- Prélever 100µl de la suspension bactérienne, la déposer à la surface de la gélose et l'étaler avec un râteau (OU : ensemencer toute la surface de la gélose par écouvillonnage) ;
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée, y déposer les disques de cellulose à l'aide d'une pince stérile et les imprégner par les antibiotiques choisis (OU : A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque d'antibiotique et le déposer à la surface de la boîte de Pétri, puis l'appuyer légèrement pour l'enfoncer dans la gélose);
- Placer la boîte de Pétri à basse température +4°C pendant 15 à 30mn afin de permettre aux antibiotiques de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier (si on a utilisé des disques de celluloses imprégnés) ;
- Placer l'antibiogramme dans l'incubateur couvercle en bas, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h ;
- Lire les résultats ;
- Mesurer les zones d'inhibition.

**7. Lectures des résultats**

L'activité de chaque antibiotique sera appréciée, par le diamètre de l'auréole (zone) d'inhibition provoqué autour du disque.

**8. Compte rendu**

1. Ecrire les résultats de l'antibiogramme ;
2. Déterminer l'effet de l'antibiotique utilisé (OU les antibiotiques);
3. Est-ce que tous les antibiotiques ont le même effet sur toutes les bactéries ?;
4. Est-ce que tous les antibiotiques agissent de manière égale sur un même type de bactérie ?
5. Quel (s) est (sont) le (les) site (s) actif (s) de (s) antibiotique (s) utilisé(s) ?
6. Quels sont les facteurs influant le diamètre de la zone d'inhibition ?