

TP n°4

Antibiorésistance des bactéries

1. Introduction

L'antibiogramme est un outil fondamental en microbiologie clinique qui permet d'évaluer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Avec l'augmentation des infections bactériennes et la montée de la résistance aux antibiotiques, il est devenu essentiel de déterminer quelle classe d'antibiotiques est efficace contre un pathogène spécifique. Ce test guide les médecins dans le choix des traitements appropriés, garantissant ainsi une approche ciblée et efficace pour lutter contre les infections.

2. Principe

L'antibiogramme repose généralement sur la méthode de diffusion sur gélose, qui consiste à inoculer une culture bactérienne sur un milieu de culture, puis à placer des disques imprégnés d'antibiotiques. Après incubation, l'observation des zones d'inhibition autour des disques permet de mesurer la sensibilité ou la résistance de la souche bactérienne aux antibiotiques testés. Cette méthode simple et efficace est cruciale pour le suivi des souches bactériennes dans les établissements de santé, contribuant à la lutte contre l'antibiorésistance.

3. But du travail

L'objectif de ce TP est de déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne à différents antibiotiques à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose.

4. Matériel et réactifs

- Souche bactérienne (*Escherichia coli*).
- Milieu de culture stérile.
- Disques d'antibiotiques.
- Boîte de Petri.
- Stérile inoculateur.
- Incubateur
- Pipettes pasteur, micropipette.
- Règle.
- Marqueur permanent.
- Eau physiologique stérile.
- Ecouvillon.
- Etuve à 37°C.

5. Procédure

Pour étudier l'effet des antibiotiques sur la croissance bactérienne, on réalise la méthode d'antibiogramme ;

- Couler les milieux de culture dans la boîte de Pétri et laisser prendre une masse.
- Préparer une suspension bactérienne en inoculant une colonie de la souche sélectionnée dans un tube contenant de la solution d'eau physiologique.
- En utilisant un écouvillon, étaler uniformément la suspension bactérienne sur toute la surface de la gélose dans la boîte de Petri.
- À l'aide d'une pince stérile, placer les disques d'antibiotiques (ou des disques de celluloses imprégnés d'antibiotiques) sur la surface de la gélose inoculée. Veiller à laisser suffisamment d'espace entre les disques pour éviter le chevauchement des zones d'inhibition.
- Placer la boîte de Pétri à basse température +4°C pendant 15 à 30 min 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).
- Incuber la boîte de Petri à 37 °C pendant 18 à 24 heures.
- Après incubation, observer les zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques. Mesurer le diamètre de chaque zone d'inhibition à l'aide d'une règle.

Précautions

- Travailler dans des conditions stériles pour éviter toute contamination.
- Laver les mains avant et après manipulation.
- Éliminer correctement les déchets biologiques.

6. Compte rendu du travail

- Ecrire les résultats de l'antibiogramme.
- Comparer les diamètres mesurés avec les critères de sensibilité/résistance selon les recommandations de l'AST (Antibiotic Susceptibility Testing).
- Classifier chaque antibiotique testé en fonction des résultats obtenus : sensible, intermédiaire ou résistant.
- Quelles sont les conclusions que vous pouvez tirer concernant la sensibilité de la souche bactérienne aux antibiotiques testés ?
- Quels sont les facteurs influant le diamètre de la zone d'inhibition ?
- Comment la résistance bactérienne peut-elle évoluer dans le temps et quel impact cela peut-il avoir sur les traitements antibiotiques ?
- Quelles pourraient être les limitations de cette méthode d'antibiogramme ?