

Variation génétique et santé

Kit antibiogramme

Réf :
117 089

Français – p 1

Version : 8110

Kit antibiogramme

Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé

1. Composition

Composition pour 18 binômes

- ▶ Milieu de culture Mueller Hinton 5 x 200 mL prêt à couler
- ▶ Disques antibiotiques en tube distributeur de 50 disques :
 - Gentamicine 15 µg (x 50)
 - Pristinamycine 15 µg (x 50)
 - Acide Nalixidique 30 µg (x 50)
 - Acide Pipemidique 20 µg (x 50)

Attention : une pastille de dessiccant est présente dans chaque tube d'antibiotiques, ne pas confondre celle-ci avec l'antibiotique

- ▶ Inocula bactériens
 - Inoculum *Escherichia coli*, culture dense lyophilisée. (Souche pasteur).
 - Inoculum *Staphylococcus epidermidis*, culture dense lyophilisée.

Précisions : chacune des souches fournies ici est considérée comme un inoculum. Cela permet de réaliser un test antibiogramme. Cela ne constitue pas une fourniture de souches pures.

- ▶ Tubes stériles d'eau physiologique 2 x 50 mL



2. Stockage et conservation

	Stockage	Conservation avant ouverture
Milieu de culture Mueller Hinton	4 °C à 25 °C	Plusieurs mois - voir date de péremption sur emballage
Tubes disques antibiotiques	-20 °C à 8 °C	Plusieurs mois - voir date de péremption sur emballage
Inocula bactériens et tubes stériles d'eau physiologique	2 °C à 8 °C	3 mois environ après réception

3. Matériel nécessaire (Non fourni)

Composition pour 18 binômes

- ▶ Boîte de Pétri 90 mm (x 40)
- ▶ Pipette pasteur stérile 1 mL (x 40)
- ▶ Pince stérile (x 20)

4. Objectifs

Comparer le comportement de 2 bactéries différentes vis-à-vis d'une sélection de 4 antibiotiques différents.

Chaque binôme préparera 2 boîtes : une pour tester *Escherichia coli* et une *Staphylococcus epidermidis*.

Les manipulations peuvent être faites en atmosphère stérile ou non.

Principe de l'antibiogramme : L'antibiotique migre à partir du disque créant ainsi une zone circulaire de gélose imbibée d'antibiotique. En fonction de la sensibilité du micro-organisme

vis-à-vis de la substance biocide, apparaît autour du disque, une zone d'inhibition plus ou moins grande où la croissance bactérienne est stoppée. Chaque antibiotique possède un abaque qui présente le rapport entre le diamètre de la zone d'inhibition de culture autour du disque et la concentration de l'antibiotique. On peut ainsi déterminer la concentration minimale inhibitrice de l'antibiotique (CMI).

5. Préparation des boîtes de gélose

Réchauffer le contenu des bouteilles de Mueller Hinton :

- Au bain marie remuer régulièrement pour homogénéiser
- Au micro-onde (remplacer le bouchon métallique par du coton cardé stérile par exemple) réchauffer par session de 1 à 2 minutes remuer régulièrement pour homogénéiser

Lorsque l'ensemble est liquide, couler chaque boîte, laisser refroidir. Une fois solidifiées, les boîtes de gélose peuvent être stockées plusieurs heures au froid (couvercle vers le bas).

6. Préparation des inocula

Reprendre les lyophilisats avec 3 mL d'eau physiologique. Bien agiter (bouchons fermés). Transférer 1 mL d'inoculum dans le reste d'eau physiologique (dilution finale autour de 1/50^{ème}). Correspond à un trouble de 1 sur échelle de McFarland.

Précisions : chacune des souches fournies ici est considérée comme un inoculum destiné à la réalisation du test antibiogramme. Cela ne constitue pas une fourniture de souches pures.

Les souches bactériennes mise en œuvre répondent aux exigences de sécurité pour des expériences en classe, elles sont déjà utilisées en laboratoire et en TP d'enseignement depuis plusieurs années. Pour plus de précision consulter le paragraphe info souches bactériennes ci-après en annexe.

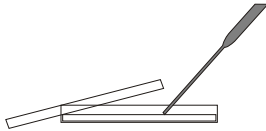
Il est à noter que la technique d'ensemencement qui associe une réhydratation d'un lyophilisat puis inondation de boîtes de Pétri par pipette pasteur simplifie la préparation et réduit les temps de manipulation. Toutefois ce type d'expérience doit être l'occasion de sensibiliser les élèves aux risques encourus lors de manipulations microbiennes, une initiation au respect des pratiques de sécurité en laboratoire est essentielle. C'est également l'opportunité de mettre en perspective ce risque face aux situations de la vie en collectivité que vivent quotidiennement les élèves (hygiène des mains, contaminations virales).

L'étape importante en sécurité microbiologique est la destruction des boîtes ensemencées après le TP. Le passage à l'autoclave ou la désinfection du matériel est obligatoire.

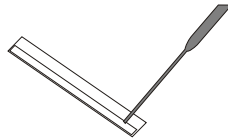
L'étape importante en sécurité microbiologique est la destruction des boîtes ensemencées après le TP. Le passage à l'autoclave ou la désinfection du matériel est obligatoire.

7. Inondation des boîtes de milieu Mueller Hinton

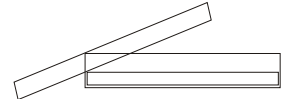
Prélever environ 1 mL de suspension bactérienne. Inonder la gélose.



Prélever environ 1 mL de suspension bactérienne. Inonder la gélose.



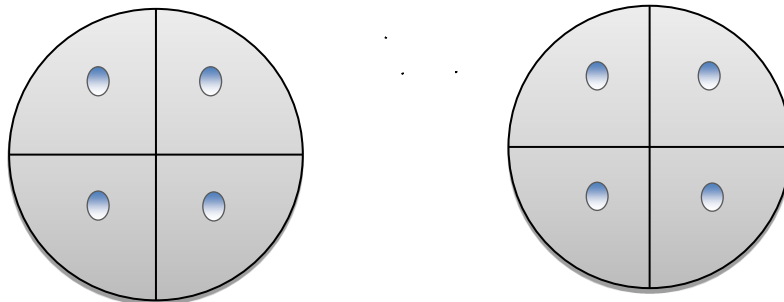
Prélever environ 1 mL de suspension bactérienne. Inonder la gélose.



8. Dépôt des disques antibiotiques

À l'aide d'une pince stérile (ou pince inox flambée à l'alcool), déposer les 4 disques d'antibiotiques différents selon schéma ci-contre.

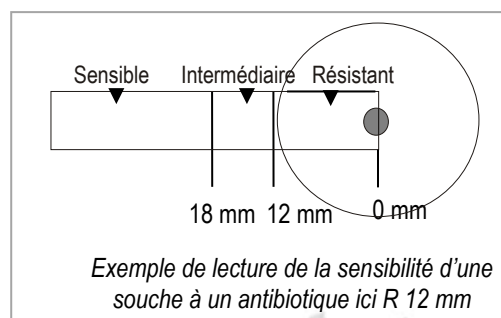
Identifier chaque boîte *E. coli* et *S. epidermis*



9. Incuber les boîtes 18h à 24h à 37 °C, couvercles vers le haut

10. Lecture des résultats

Le diamètre d'inhibition indique le phénotype de relation à l'antibiotique.



Résultats observés pour *Escherichia coli* et *Staphylococcus epidermidis*.

	<i>E. coli</i>	<i>S.epidermidis</i>
Gentamicine 15	S 25mm	S 36 mm
Pristinamycine 15	R 6mm	S 34 mm
Acide Nalixidique 30	S 26mm	R 12 mm
Acide Pipemidique 20	S 28mm	I 14 mm

11. Élimination

Éliminer les boîtes, tubes de dilutions et flacons de lyophilisats avec une méthode normalisée de traitements des déchets biologiques pour souches bactériennes de laboratoire P1.

12. Service après-vente

Pour toutes réparations, réglages ou pièces détachées, veuillez contacter :

JEULIN – S.A.V.
468 rue Jacques Monod
CS 21900
27019 EVREUX CEDEX France

0 825 563 563*

* 0,15 € TTC/min. à partir un téléphone fixe

ANNEXE

Information sur les souches bactériennes

Les souches proposées dans le kit antibiogramme (Réf. 117 089) sont livrées sous forme d'inocula lyophilisés. Il s'agit de souche d'*E coli* et *S epidermidis* autorisées sur la liste des souches conseillées pour l'enseignement et dont la délivrance aux établissements d'enseignements techniques est autorisée par la circulaire du 8 août 1973 parue au Journal Officiel du 6 novembre 1973 et actualisée par l'Institut Pasteur en 1994. Ces souches sont sensibles à la plupart des antibiotiques existants. Ce ne sont pas, par origine et par définition, des bactéries pathogènes.

Escherichia coli est une espèce bactérienne commensale de la flore intestinale des humains et des animaux à sang chaud. Il existe une très grande diversité de souches (plus de 200). Certaines sont pathogènes par acquisition de gènes spécifiques codant des entérotoxines pouvant entraîner des phénomènes de diarrhées. Ces souches pathogènes sont clairement identifiées par leur sérotype et leur serovar. Leur utilisation est strictement encadrée.

L'espèce *E. coli* est l'organisme vivant le mieux connu, le plus étudié et le plus utilisé. On peut assurer son innocuité.

Staphylococcus epidermidis est une espèce bactérienne commensale de la peau humaine. Elle ne présente aucun caractère de pathogénicité. Certaines souches rencontrées en milieu hospitalier présentent des résistances aux antibiotiques et peuvent être retrouvées dans des cas d'infections nosocomiales probablement comme souches concomitantes.

Pour plus d'information :
Professeur Christiane Forestier
Laboratoire de Bactériologie
Faculté de Pharmacie
CLERMONT FERRAND



Assistance technique en direct

Une équipe d'experts
à votre disposition
du lundi au vendredi
de 8h30 à 17h30

- Vous recherchez une information technique ?
- Vous souhaitez un conseil d'utilisation ?
- Vous avez besoin d'un diagnostic urgent ?

Nous prenons en charge
immédiatement votre appel
pour vous apporter une réponse
adaptée à votre domaine
d'expérimentation :
Sciences de la Vie et de la Terre,
Physique, Chimie, Technologie.

Service gratuit*

0 825 563 563 choix n°3**

* Hors coût d'appel. 0,15 € TTC/min à partir d'un poste fixe.
** Numéro valable uniquement pour la France
métropolitaine et la Corse. Pour les DOM-TOM et les EFE,
composez le +33 2 32 29 40 50.

Aide en ligne
FAQ.jeulin.fr



Direct connection for technical support

A team of experts
at your disposal
from Monday to Friday
(opening hours)

- You're looking for technical information ?
- You wish advice for use ?
- You need an urgent diagnosis ?

We take in charge your request
immediately to provide you
with the right answers regarding
your activity field : Biology, Physics,
Chemistry, Technology.

Free service*

+33 2 32 29 40 50**

* Call cost not included.
** Only for call from foreign countries.



468, rue Jacques-Monod, CS 21900, 27019 Evreux cedex, France
Métropole • Tél : 02 32 29 40 00 - Fax : 02 32 29 43 99 - www.jeulin.fr - support@jeulin.fr
International • Tél : +33 2 32 29 40 23 - Fax : +33 2 32 29 43 24 - www.jeulin.com - export@jeulin.fr
SAS au capital de 1 000 000 € - TVA intracommunautaire FR47 344 652 490 - Siren 344 652 490 RCS Evreux