

1.2.2 Étalonage de bactéricidie par méthode des stries

- **Extemporément**, réaliser la série de dilutions suivantes du reliquat de bouillon de Mueller Hinton à 5.10^5 bactéries par mL : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Sous un volume final de 1 mL, diluant = eau physiologique stérile.
- Puis, rapidement, pour chaque dilution, à partir de la dilution 10^{-1} :
 - effectuer un prélèvement à l'öse calibrée de 10 μ L ou à la pipette mécanique réglée à 10 μ L ;
 - ensemer une boîte de milieu de culture Muller-Hinton sous forme d'une strie de 5 cm en effectuant un aller et retour à l'öse tel que l'aller-retour dépose les 10 μ L. Réaliser les 5 stries sur une boîte unique. Le point important dans cette manipulation est la reproductibilité des gestes techniques. La surface des géloses doit être « sèche ».
 - Incuber.

La boîte ainsi réalisée est dénommée : « étalonage de bactéricidie »

1.2.3 Estimations de bactéricidie

- Après 24 heures d'incubation, récupérer la boîte d'étalonage de bactéricidie et la placer à 0-4°C.
- Pour chacun des tubes T_i montrant une absence de culture visible après 24 heures d'incubation :
 - effectuer un prélèvement à l'öse calibrée de 10 μ L ou à la pipette mécanique réglée à 10 μ L ;
 - ensemer une boîte de milieu de culture Muller-Hinton sous forme d'une strie de 5 cm en effectuant un aller et retour à l'öse tel que l'aller-retour dépose les 10 μ L. Réaliser jusqu'à 5 stries sur une boîte unique.
 - Incuber.
 - Estimer la bactéricidie en confrontant les résultats obtenus à ceux de la boîte « étalonage de bactéricidie ».

1.3 Compte-rendu

- Manipulations réalisées et résultats obtenus. Essentiellement sous forme de schémas et tableaux. Concernant l'étalonage de bactéricidie, donnez l'allure des résultats attendus et la comparaison avec ceux obtenus.
- Conclusion (comparer aussi avec les résultats de CMI obtenus lors du TP « CMI de différentes souches vis à vis de l'ampicilline : méthode standard de dilution en milieu gélosé »).

Bibliographie : D'après les anciennes recommandations 2010 et 2011 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). Ces documents pdf qui étaient librement téléchargeables à <http://www.sfm-microbiologie.org>. Ce n'est plus possible aujourd'hui. L'EUCAST (http://www.eucast.org/documents/external_documents/) renvoi aux normes ISO payantes ISO 20776-1 et 2 ce qui est très très désagréable. Mais il existe encore les pages 53 à 63 du manuel « Manual of antimicrobial susceptibility testing » de l'ASM (édition 2005) disponible en ligne à <http://www.asm.org/ccLibraryFiles/FILENAME/000000002484/Manual%20of%20Antimicrobial%20Susceptibility%20Testing.pdf> (2015).