

	Chapitre 3
	Exercices

1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice en gentamicine

1.1. Présentation de la manipulation

- La souche testée (*Escherichia coli*), est fournie en tube à essai sous forme de culture de 18h en milieu Mueller-Hinton liquide, diluée au 1/100^e.
- La solution mère de gentamicine présente une concentration de 256 mg.L⁻¹.
- La concentration minimale inhibitrice en gentamicine sera déterminée par **méthode de dilution de l'antibiotique en milieu liquide en tubes à hémolyse**.

1.2. Réalisation de la gamme de dilution de l'antibiotique

Introduire 0,5 mL de bouillon Mueller-Hinton dans les 12 tubes à hémolyse.

Dans le tube n°1, introduire 0,5 mL de solution mère de gentamicine. Homogénéiser par aspiration-refoulement et reprendre 0,5 mL.

Introduire les 0,5 mL prélevés dans le tube n°2. Homogénéiser par aspiration-refoulement et poursuivre la série de dilutions « en cascade » jusqu'au **tube n°11**. **Le tube n°12 ne doit pas contenir d'antibiotique.**

1.3. Inoculation des tubes et incubation

Dans chaque tube (n°1 à 12), introduire **0,5 mL de culture diluée au 100^e**.

Incuber les tubes 24h à 37°C.

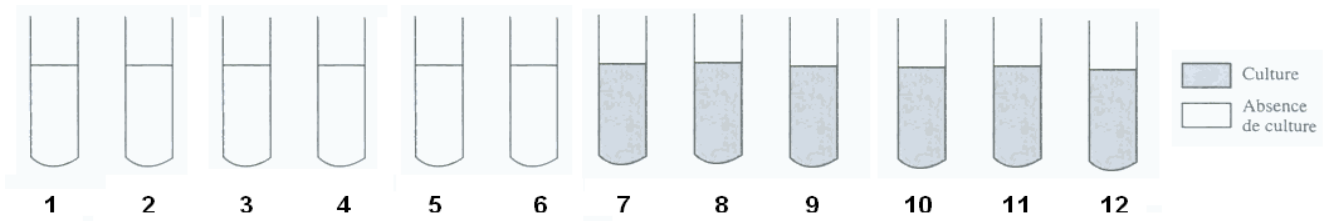
1.4. Questions

- 1.4.1. Compléter le tableau récapitulatif de la manipulation et calculer la concentration en gentamicine dans chaque puits.

Puits n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Milieu MH stérile (mL)												
Solution de gentamicine (mL)												
Suspension inoculum (mL)												
Concentration finale en gentamicine (mg.L ⁻¹)												

- 1.4.2. Indiquer la fonction du tube n°12.

1.4.3. Interpréter le résultat fourni ci-dessous.



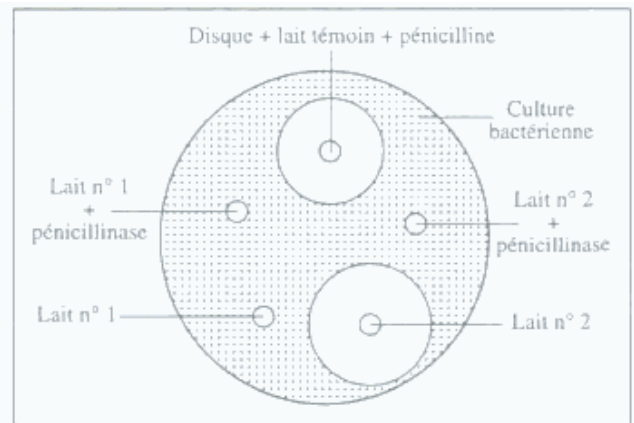
2. Recherche d'antibiotiques dans le lait

1. Pour rechercher la présence d'un antibiotique (la pénicilline) dans des laits destinés à l'alimentation humaine, on utilise la méthode des disques (diffusion en gélose).

1.1. Pourquoi doit-on rechercher la présence d'antibiotiques dans un lait ?

1.2. Donner le principe de la méthode utilisée.

1.3. Une souche de *B. stearotherophilus*, sensible à la pénicilline, est introduite dans un milieu gélosé glucosé et coulé en boîte de Pétri. Des disques de papier sont imprégnés d'un lait témoin additionné de pénicilline et des laits n° 1 et n° 2 à analyser, puis disposés sur la gélose. Après 2 h 30 d'incubation à 37 °C, on obtient les résultats présentés sur la figure.



1.3.1. Quel est l'intérêt du disque témoin ?

1.3.2. Quel est le rôle de la pénicillinase ?

1.3.3. Interpréter les résultats obtenus pour les laits n° 1 et n° 2.

3. Test de Gots

Interpréter le résultat du test présenté dans le schéma ci-dessous.

