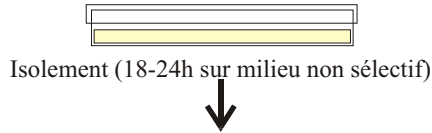


# Antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Souche pure à étudier



Suspension en eau physiologique de trouble équivalent au standard Mc Farland 1.



Culture en bouillon non sélectif de 18h



Préparation de l'inoculum

## Technique par inondation

Pour un bacille Gram négatif diluer au 1/1000 (1 oese de 10 $\mu$ L dans 10 mL d'eau).  
 Pour un *Staphylococcus*, *Enterococcus* diluer au 1/100 (1 goutte de pipette Pasteur dans 5 mL)  
 Pour un *Streptococcus* diluer au 1/10 (1 mL dans 9 mL).



Inoculum

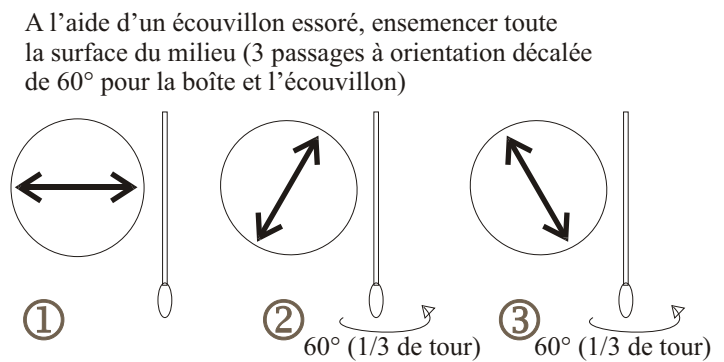
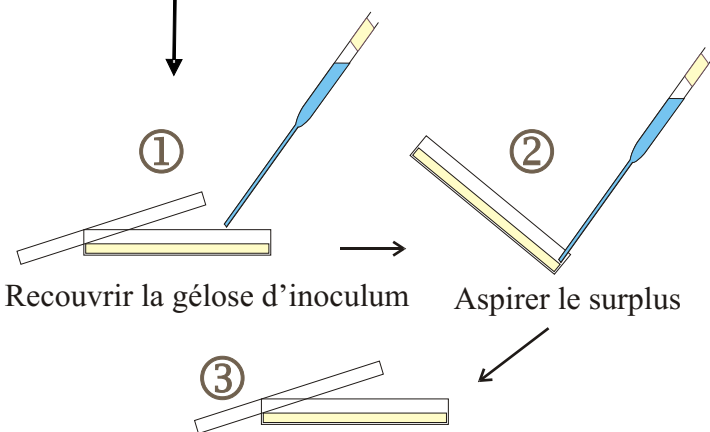
## Technique par écouvillonnage

Pour un bacille Gram négatif diluer au 1/100 (1 goutte de pipette Pasteur dans 5 mL).  
 Pour un *Staphylococcus*, *Enterococcus* diluer au 1/10 (1 mL dans 9 mL)  
 Pour un *Streptococcus* ne pas diluer.



Inoculum

Ensemencement

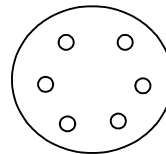


## Laisser sécher 15 minutes

Le milieu utilisé est la gélose **Mueller-Hinton** (4mm d'épaisseur) pour les bacilles Gram négatif, les *Staphylococcus*, les *Enterococcus*.  
 Pour les *Streptococcus* on utilise le milieu Mueller-Hinton + sang.

Dépôt

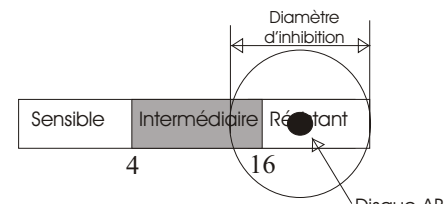
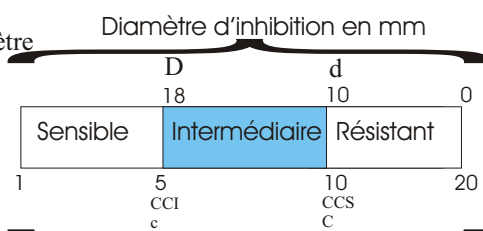
Dépôt des disques d'antibiotique selon schéma de disposition (maximum 6 disques sur grande boîte de pétri)



**Incubation 18-24 heures à 37°C en aérobiose** sauf *Streptococcus* à incuber sous atmosphère enrichie en Co<sub>2</sub>.

Lecture

Pour chaque antibiotique, mesurer le diamètre de la zone d'inhibition. Grâce aux abaques (exemple à droite) déterminer la catégorie clinique de la bactérie vis à vis de chaque antibiotique testé (sensible, intermédiaire, résistant) et estimer la CMI.



Dans cet exemple la bactérie est intermédiaire vis à vis de l'antibiotique. Estimation de la CMI : 4 mg/L < CMI < 16 mg/L

Abaque de lecture  
 CCI = c = concentration critique inférieure (CCS = C = supérieure)  
 D = diamètre critique supérieur (d = inférieur)