

<https://biotechnologies.enseigne.ac-lyon.fr/spip/spip.php?article133>

# Gradient de Szybalski

- Microbiologie -



Date de mise en ligne : dimanche 7 décembre 2014

---

Copyright © Biotechnologies - ST2S - Lyon - Tous droits réservés

---

Des mutations spontanées sont à l'origine des dérives génétiques des souches de microorganismes, et ainsi de la perte ou de l'acquisition de nouveaux caractères.

### **Principe.**

Sélection de mutants spontanés résistants aux antibiotiques par la technique du gradient de Szybalski.

### **Préparation du milieu de culture :**

La concentration finale en antibiotique dans la gélose Mueller Hinton doit être de 50 mg/L.

Ajouter l'antibiotique à 20 mL de gélose de MH fondue et refroidie à ~ 50°C.

Couler dans une boîte de Pétri. Laisser solidifier en position inclinée.

Lorsque la gélose est solidifiée, repérer l'axe du gradient et le noter sur le fond de la boîte.

Mettre la boîte à plat et rétablir le niveau avec ~ 20 mL de gélose MH sans antibiotique fondue et refroidie à ~ 50°C.

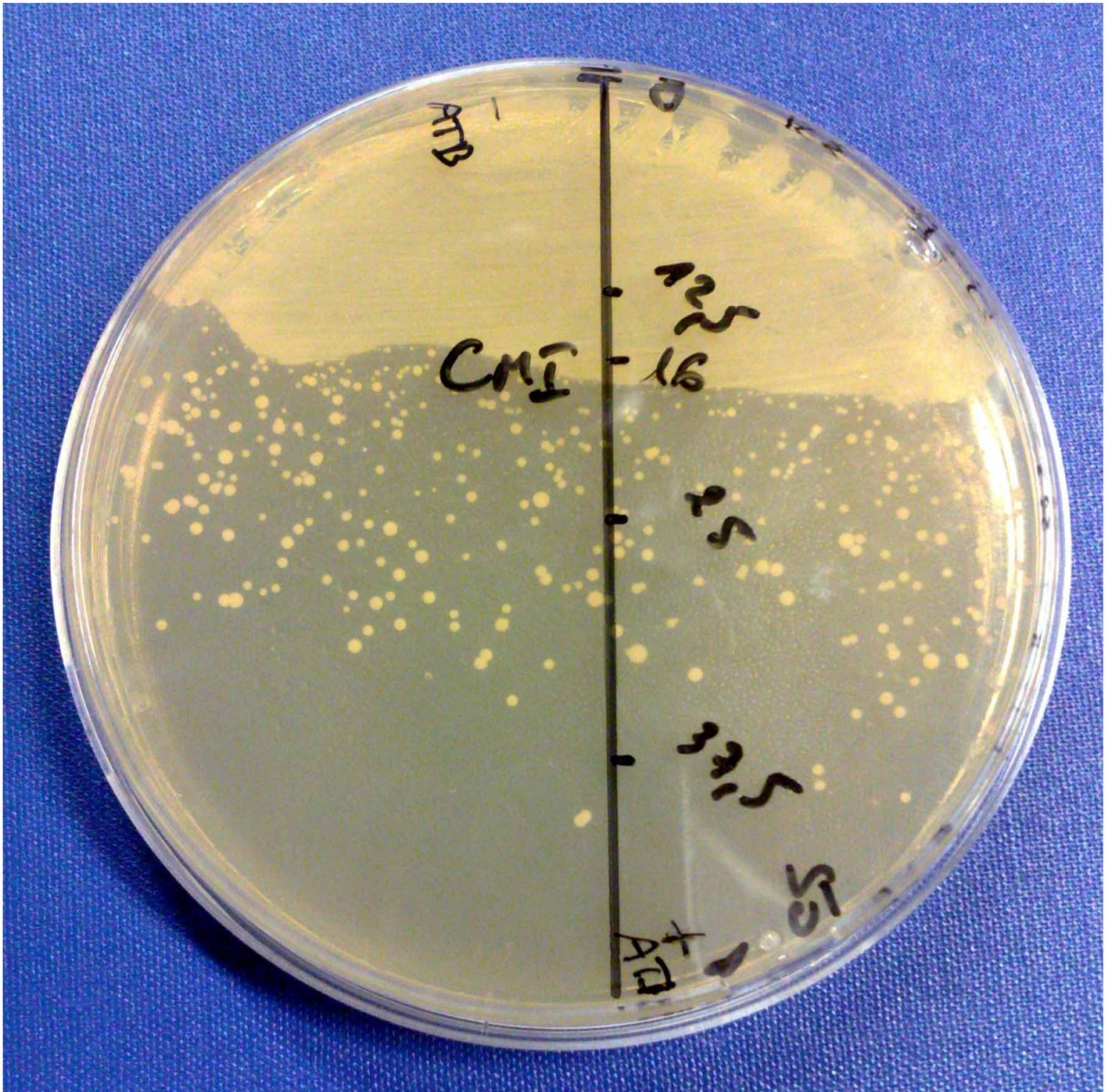
Laisser solidifier. L'antibiotique va diffuser et il s'établit un gradient de concentration allant de 0 à 50 mg/L. Mettre à sécher à l'étuve avant utilisation de la gélose.

Ensemencer le milieu de culture par étalement de 0,2 mL de suspension bactérienne très concentrée.

### **Lecture**

La culture confluite s'arrête aux environs de la CMI de la souche testée.

Les colonies visibles au-delà correspondent à des mutants résistants à de plus fortes concentrations en antibiotique.



Mutants de *Staphylococcus aureus* résistants à la streptomycine