

Titrage d'une suspension de phages

1° Principe :

La suspension de phages est diluée de dix en dix. Une goutte de chacune des dilutions est déposée sur une géloseensemencée, en nappe, avec une souche sensible. Pour les gouttes correspondant à des dilutions suffisantes, on observe des plages de lyse isolées qui sont numérees.

Le titre est donné en UFP/mL (Unités Formant Plages par millilitre) en tenant compte de la dilution.

2° Dilutions de la suspension de phages :

On réalise les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} .

Elles sont effectuées dans du bouillon ordinaire.

3° Mise en culture de la souche sensible :

Un bouillon de 18 heures est dilué dix fois. Cette dilution est utilisée pour ensemercer, par inondation, une gélose ordinaire qui contient de préférence seulement 12 grammes d'Agar par litre.

La boîte est séchée pendant 15 minutes.

4° Mise en œuvre du titrage :

Déposer sur la boîte séchée, 20 microlitres de chacune des dilutions. Incuber 24 heures à 37°C.

Pour les dilutions les plus faibles, les plages de lyse sont confluentes et l'on observe de larges zones de lyse (environ 1 cm de diamètre) à l'endroit où les gouttes ont été déposées. Quand la dilution est suffisante, on observe des petites plages de lyse (environ 1 mm de diamètre).

Si l'on a par exemple 4 plages de lyse pour la dilution 10^{-4} , le titre est de $4 \cdot 10^4$ UFP/mL.