

Antibiogramme BK

357-0301

DOMAINE D'APPLICATION

Toute souche sauvage de bacille tuberculeux (souche qui n'a jamais été en contact avec un antibiotique) renferme spontanément un certain pourcentage de bacilles résistants.

- Ces derniers peuvent être sélectionnés par un traitement mal adapté, une monothérapie, en particulier. Les bacilles hébergés par le patient deviennent alors résistants à l'antibiotique utilisé : il s'agit de **résistance acquise**.
- Les malades porteurs de bacilles résistants peuvent contaminer des sujets sains, qui présenteront ultérieurement une tuberculose à ces mêmes bacilles, d'où le terme de **résistance primaire**.

Ces deux formes de résistances, acquise et primaire, du bacille tuberculeux ont été constatées, *in vivo* par les cliniciens et *in vitro* par les bactériologistes. Le rôle de l'antibiogramme est d'identifier le ou les antibiotiques auxquels le bacille est résistant et de fixer, ainsi, les modalités du traitement.

PRINCIPE

Les différents milieux contenus dans ce coffret permettent, en mesurant des résistances par la méthode des proportions (1), de déterminer la sensibilité d'une souche du Bacille de Koch aux principaux antibacillaires :

Isoniazide (I.N.H.) : 4 concentrations
(0,1 ; 0,2 ; 1 et 10 µg/ml)

Streptomycine : 1 concentration (4 µg/ml)

Rifampicine : 1 concentration (40 µg/ml)

Ethambutol : 1 concentration (2 µg/ml)

Le coffret contient des tubes témoins et des milieux imprégnés d'antibiotiques.

PRESENTATION

Coffret

- 30 tubes bouchés vis **code 357-0301**

CONSERVATION / VALIDITE / LOT

- A + 2°C - 8 °C et à l'abri de l'humidité
- La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

1. METHODE DIRECTE

Chaque fois qu'un produit pathologique contient au moins 1 B.A.A.R.* pour 10 champs microscopiques sur le frottis coloré par la méthode de Ziehl-Neelsen, ou 1 B.A.A.R. par champ sur le frottis coloré par l'auramine, il est possible d'effectuer un antibiogramme direct en pratiquant de la façon suivante :

- A partir du culot de centrifugation du produit pathologique, homogénéisé, riche en bacilles, faire une suspension mère en ajoutant 3 ml d'eau distillée stérile.

* B.A.A.R. : Bacille Acido-Alcool-Résistant

- A partir de cette préparation, considérée comme dilution au 1/10, préparer deux dilutions successives selon le tableau ci-dessous:

Microscopie	Dilutions à ensemercer
Moins d'1 B.A.A.R./champs	non dilué et 10 ⁻²
De 1 à 10 B.A.A.R. /champ	dilutions 10 ⁻¹ et 10 ⁻²
Plus de 10 B.A.A.R./champ	dilutions 10 ⁻² et 10 ⁻³

Chaque dilution est ensemencée à raison de 0,2 ml par tube.

2. METHODE INDIRECTE

Préparation de la suspension bacillaire

- Prélever, avec une spatule de platine, environ 5 mg de culture. Le prélèvement est placé dans un ballon stérile contenant une trentaine de billes de verre de 3 à 5 mm de diamètre.
- Agiter le ballon à sec pendant 20 à 30 secondes
- Ajouter 0,1 ml d'eau distillée stérile
- Agiter 10 à 15 secondes
- Ajouter 5 ml d'eau distillée stérile.

Etalonnage

- Ajuster, avec de l'eau distillée stérile, l'opacité de la suspension bacillaire obtenue.

Antibiogramme BK

Ensemencement

- A partir de cette suspension, préparer des dilutions de base 10, allant de 10^{-1} à 10^{-5} .
- Ensemencer la série de tubes avec les dilutions 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} .

Incubation

Dans les deux cas, méthode directe ou méthode indirecte :

- Après 3 ou 4 jours d'incubation à 37°C, les tubes seront fermés hermétiquement, soit par vissage, soit par pose d'un capuchon en matière plastique.

LECTURE ET INTERPRETATION

La lecture peut être effectuée à partir du 21^{ème} jour, par comptage des colonies apparues dans les différents tubes, afin de déduire, pour la souche testée, la proportion de bacilles résistants. Une souche est dite **résistante** lorsque le nombre de bacilles résistants qu'elle comporte atteint ou dépasse un certain pourcentage limite, généralement fixé à 1%.

Dilution	Tubes Témoin	P.Z.A. témoin	RAMP* 40 µg	SM 4 µg	EMB 2 µg
	Nombre de colonies par tube				
10^{-1}					
10^{-3}					
10^{-5}					
% de la population bacillaire totale					

Conclusion: sensible ou résistant

Dilution	I.N.H.			PZA
	0,1 µg	0.2 µg	1 µg	200 µg
Nombre de colonies par tube				
10^{-1}				
10^{-3}				
10^{-5}				
% de la population bacillaire totale				

Conclusion: sensible ou résistant

* Les mycobactéries tuberculeuses sont également sensibles à la Rifampicine et à la Rifamycine. Les mycobactéries atypiques présentent des sensibilités variées vis-à-vis de

ces deux antibiotiques. Ex : *M. kansasii*, contrairement au bacille tuberculeux, est résistant à la Rifamycine S.V. qui est incorporée, en raison de sa meilleure stabilité à la place de la Rifampicine. Pour cette mycobactérie, il faudra donc mesurer sa sensibilité à la Rifampicine sur un milieu préparé extemporanément.

CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

BIBLIOGRAPHIE

• **GROSSET J., MEYER L. (1980)** : Mycobacteries atypiques et mycobactérioses. Encycl. Méd. Chirur., Paris, Mal. Infect. 8038 c10, 7.

• **CANETTI G., RIST N., GROSSET J. (1961)** : Mesure de la sensibilité du bacille tuberculeux aux drogues anti-bacillaires par la méthode des proportions. Rev. Tubercul. Pneumol., 27 : 217.