

Antibiogramme bactérien

DOMAINE D'APPLICATION

L'Antibiogramme, bactérien permet la **détermination de la sensibilité des bactéries aux agents Antibactérien** en utilisant la **méthode de diffusion en milieu gélosé**, c'est-à-dire :

- Des **milieux solides répartis en boîtes de Petri** (rondes ou carrées)
- Des **disques imprégnés** des différents agents antifongiques correspondant aux spécialités pharma-ceutiques mises à la disposition de la Clinique.

PRESENTATION

Milieux :

voir *Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)*

Disques imprégnés d'agents antibactériens :

Etui de 4 cartouches de 50 disques. La liste de ces disques, avec les codes de présentation, est disponible dans notre catalogue.

METHODOLOGIE

Milieux utilisés

- Gélose **code 356-4884**
de MUELLER-HINTON
de TONICITE NORMALE
- Gélose **code 356-3825**
de MUELLER-HINTON au SANG
(pour Streptocoques)
- Gélose **code 355-6136**
de MUELLER-HINTON HYPERSALE
(pour souches de Staphylocoques
résistantes hétérogènes aux β -lactamines)

N.B. :

- L'épaisseur de la gélose, dans les boîtes de Pétri, est de 4 mm.
- Les boîtes remplies de gélose doivent être séchées 30 min à 37°C avant utilisation.

Inoculum

Seul, un inoculum contrôlé sur le plan qualitatif et sur le plan quantitatif permet une appréciation valable de la sensibilité d'une souche bactérienne.

• Sur le plan qualitatif

L'inoculum doit être préparé avec une couche obtenue en culture pure de 18 heures sur milieu liquide.

a) Si le produit à analyser n'est pas polymicrobien, cette culture peut être réalisée directement sur milieu liquide.

b) Par contre, s'il s'agit d'un produit contaminé par plusieurs germes, il est indispensable d'effectuer, au préalable, un isolement sélectif sur gélose, puis de procéder ainsi :

- Préparer un tube à hémolyse ($\varnothing = 13$ mm) contenant 1 ml de bouillon,
- Prélever sur la gélose de 1 à 10 colonies, strictement identiques, de la bactérie à tester et faire une suspension de façon à obtenir une opacité correspondant à une culture de 18 heures.

• Sur le plan qualitatif

La suspension bactérienne réalisée doit ensuite être diluée, de façon à obtenir, sur la gélose d'étude de la sensibilité aux agents antibactériens, des colonies confluentes.

Dilutions proposées:

Entérobactéries, <i>Pseudomonas</i>	1/300
Staphylocoques, entérocoques	1/100
Streptocoques, <i>Haemophilus</i>	1/10

Ces dilutions peuvent être réalisées à l'aide d'anses calibrées (une anse de 1,5 à 2 mm de diamètre délivre 1/50 de ml).

Ensemencement

- Inonder la surface entière de la gélose avec 3 à 5 ml de la dilution de suspension bactérienne et réaspirer l'excès en inclinant la boîte dans plusieurs directions.
- Sécher les boîtes 15 minutes à 37°C.

Applications des disques

- Déposer les disques sur la gélose, à 15 mm du bord de la boîte, en appuyant légèrement pour assurer le contact avec la gélose.
- Il est possible d'opérer à l'aide d'une pince, mais plus rapidement en utilisant l'un des distributeurs automatiques commercialisés par BIO-RAD.

Il est possible de placer :

- 6 disques sur une boîte ronde de $\varnothing 90$ mm
- 16 disques sur une boîte carrée de 120 mm de côté.

N.B. :

Antibiogramme bactérien

Le nombre de disques par boîte doit être tel que les zones d'inhibition ne se recoupent pas.

Préincubation et prédiffusion

Afin d'obtenir une prédiffusion des antibiotiques, il est préférable de laisser les boîtes pendant 30 minutes à température du laboratoire avant de les placer à l'étuve à 37°C.

Lecture

Pour chaque antibiotique :

- Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition avec un pied à coulisse ou un compas appliqué le plus près possible de la surface de la gélose.
- Reporter cette mesure sur l'échelle de concordance correspondante, en prenant pour origine l'extrémité droite du schéma (échelle de concordance fournie par notre document "Antibiogramme bactérien").
Il est possible d'appliquer directement la boîte sur l'échelle de concordance, mais ce procédé expose à des erreurs de parallaxe

Interprétation

a) Catégories de souches

Une souche est "**SENSIBLE**" (S) lorsqu'elle est atteinte par le traitement antibiotique appliqué par voie générale et à doses normales.

Une souche est "**INTERMEDIAIRE**" (I) lorsqu'elle est atteinte par :

- Un traitement local,
- Une augmentation des doses par voie générale,

Une souche est "**RESISTANTE**" R lorsqu'elle ne répond pas au traitement antibiotique, quelles qu'en soient les modalités.

b) Concentration Minimale Inhibitrice (C.M.I.)
L'échelle figurant sur le document "Antibiogramme bactérien", en dessous des bandes de mesure, donne la concordance entre le diamètre de la zone d'inhibition et la C.M.I. déterminée en mg/ml par la méthode des dilutions en milieu liquide.

IMPORTANT

L'antibiogramme de certaines bactéries (*Neisseria*, *Haemophilus*, bactéries anaérobies, par exemple) doit être effectué selon des règles particulières décrites dans des études spécialisées, que nous tenons, si besoin est, à votre disposition.

Un texte est réservé, dans ce manuel, à l'antibiogramme des B.K.

CONSERVATION / VALIDITE / LOT

- Milieux :
voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)
- Disques : à + 2 - 8°C et à l'abri de l'humidité
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

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

- **CHABBERTY Y.A. (1982)** : Sensibilité bactérienne aux antibiotiques extrait de "Bactériologie Médicale", par L. LE MINOR et M. VERON (Editions Flammarion, Médecine-Sciences, Paris).
- **DUVAL J., SOUSSY C.J. (1980)** : Abrégé d'antibiothérapie, (Editions Masson, Paris).
- **COURVALIN P., GOLDSTEIN F., HILIPPON, SIROT J. (1985)** : L'Antibiogramme Editions M.P.C., Paris-Bruxelles).
- **ERICSSON H.M., SCHERRIS J.C. (1971)** : Antibiotic susceptibility testing. Report of an international collaboration study. Acta Patho. Microbiol. Scand. : suppl. 217.
- **O.M.S.** : Comité d'Experts sur la standardisation Biologique. 1971, rapport technique, série 673, O.M.S. Genève, 156-192. (normes n°26 pour les substances biologiques, révision 1981).