

**Université Mohamed Khider -Biskra-
Faculté des Sciences Exactes et des SNV
Département des SNV**

TD N° 02 : Antibiogramme

Définition : L'antibiogramme est un test qui permet de déterminer la sensibilité d'une bactérie à divers antibiotiques.

Principe

Les **disques** de papier imprégnés avec une concentration déterminée **d'agent antimicrobien** sont déposés à la surface d'un **milieu de culture** standardisé préalablement ensemencé avec un **inoculum** calibré d'une culture pure de la bactérie à tester. Après incubation, les boîtes de Petri sont examinées et les **diamètres des zones d'inhibition** entourant les disques sont mesurés et comparés aux **valeurs critiques** des différents agents antimicrobiens testés, afin de déterminer la catégorisation clinique (résistant, intermédiaire, sensible).

Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à la sensibilité de la bactérie testée.

Mode opératoire

a/ Milieu de culture Mueller – Hinton doit être coulé en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm et les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

b/ Les disques d'antibiotiques sont fabriqués à partir de papier absorbant de qualité supérieure imprégnés d'agents antimicrobiens à des concentrations précises. Ils sont clairement identifiés par un sigle imprimé de chaque côté du disque.

c/ Préparation de l'inoculum :

- À partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile de 0,85 à 0,9%.

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm c'est-à-dire à environ 10^8 bactéries par ml.

d/ Ensemencement :

Ensemencer par inondation avec la suspension inoculum et réaspirer l'excédent en respectant les mesures de sécurité nécessaires.

e/ Application des disques d'antibiotiques :

- Appliquer les disques à l'aide d'une pince bactériologique stérile.

- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces stériles et ne pas déplacer les disques après application.

Prédiffusion pendant 30 minutes à 2 heures à température ambiante.

Il faut respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie.



Figure 01 : Disques d'antibiotiques

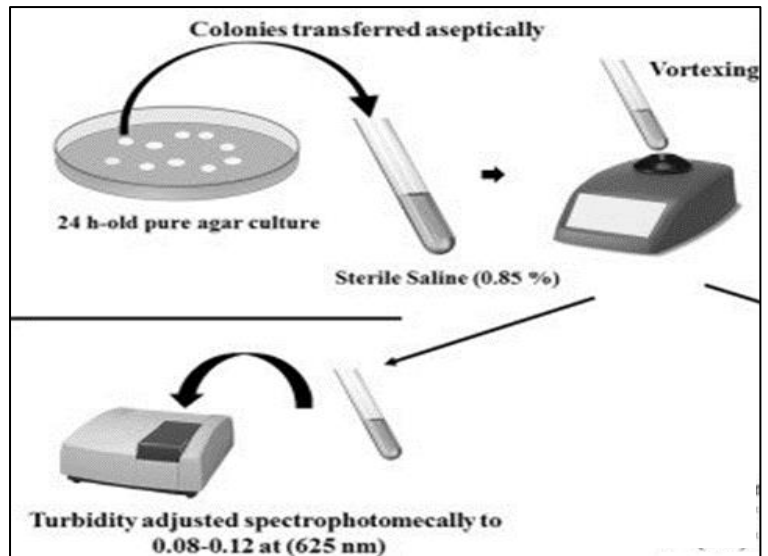


Figure 02 : Préparation de l'inoculum

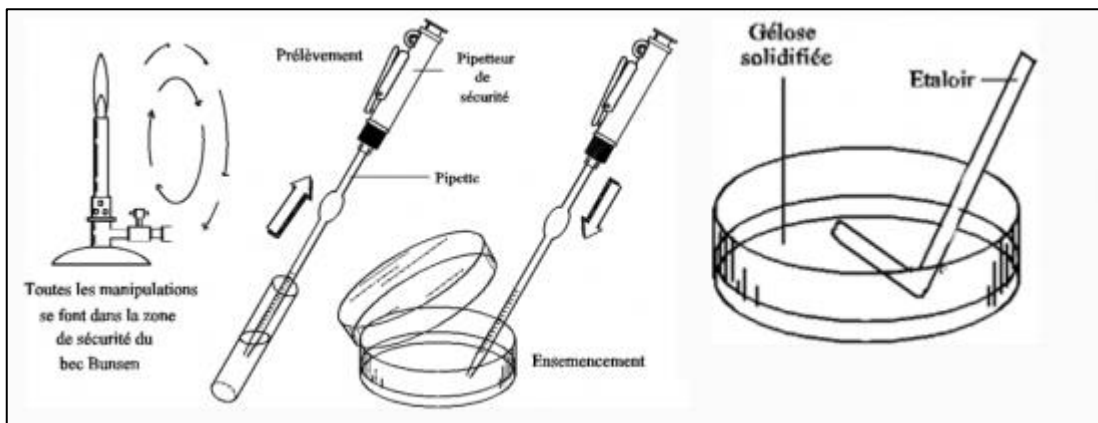


Figure 03 : Etape d'ensemencement

f/ Lecture et interprétation des résultats

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I.

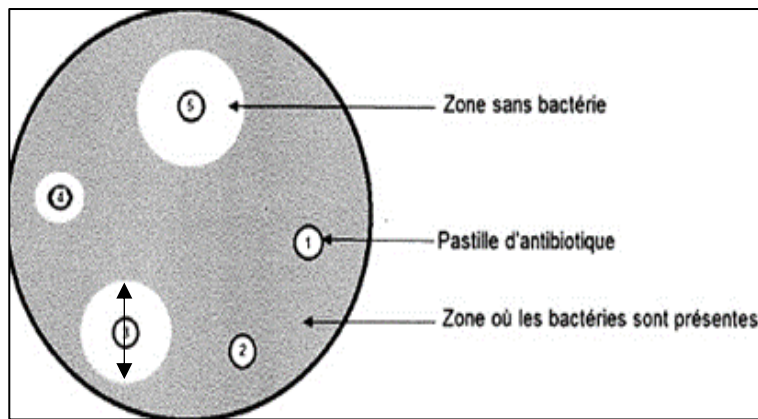


Figure 04 : Exemple d'un résultat d'un antibiogramme

Concentration critique

Pour chaque souche microbienne, la sensibilité ou la résistance à un antibiotique est différente. Elle fait appel aux notions de concentration critique inférieure (c) et de concentration critique supérieure (C).

c : dose minimale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir sans dangers et qui fait effet sur la souche bactérienne.

C : dose maximale d'antibiotique qu'un malade peut recevoir sans dangers et qui fait effet sur la souche bactérienne.

Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Pour chaque couple bactérie-antibiotique, on détermine une **concentration minimal inhibitrice** (CMI). La CMI est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible. En comparant la CMI aux concentrations critiques, on détermine la sensibilité ou la résistance de la bactérie à l'antibiotique.

* $CMI < c$: la bactérie est sensible à l'antibiotique (S). Ceci signifie qu'il suffit d'une faible concentration d'antibiotique pour tuer les bactéries et que cette dose nécessaire est encore plus faible que la plus faible des doses qu'on peut administrer chez l'homme. Donc en clair, si on traite quelqu'un avec l'antibiotique, la concentration de celui-ci dans l'organisme sera toujours suffisante pour tuer les bactéries.

* $CMI > C$: la bactérie est résistante à l'antibiotique (R). La dose nécessaire pour tuer les bactéries est bien trop élevée pour être supportée chez l'homme sans effets secondaires importants. Cet antibiotique ne peut pas être utilisé pour traiter une infection.

* $c < CMI < C$ la bactérie est intermédiaire à l'antibiotique (I). En pratique, ça correspond à une situation où la concentration est tantôt suffisante pour tuer les bactéries, tantôt insuffisante. Il faut considérer que la bactérie sera résistante *in vivo* et il ne faut pas utiliser cet antibiotique.

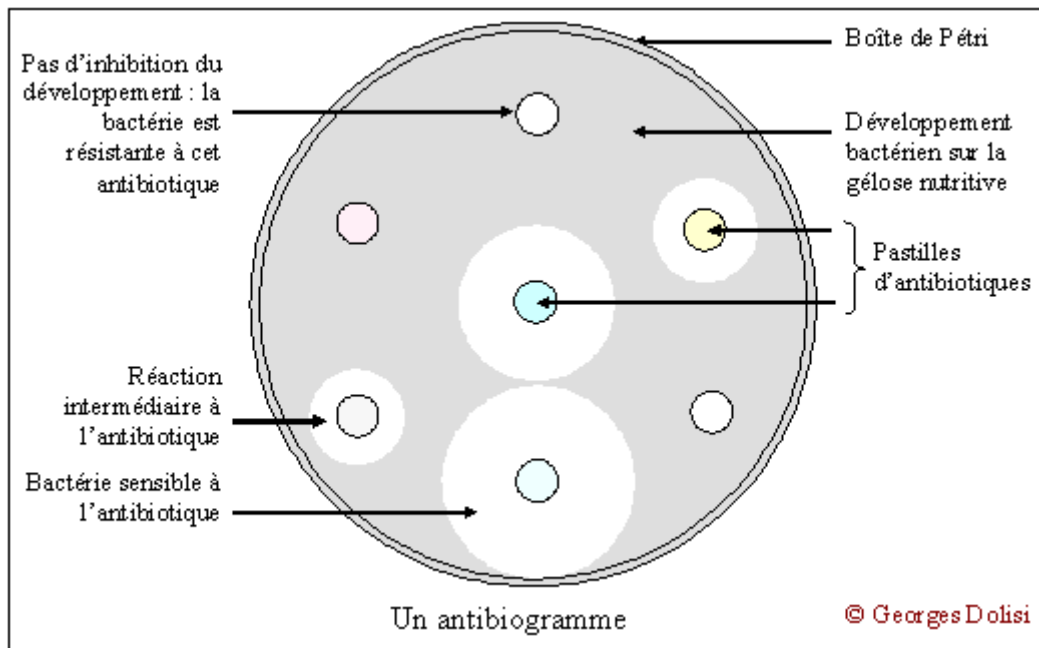


Figure 05: Résultat d'un antibiogramme

Tableau 01 : Exemple de concentrations critiques pour l'interprétation des CMI et des diamètres critiques des zones d'inhibition

Antibiotique	Charges du disque (μg)	Diamètres critiques (mm)		Concentrations critiques (mg/L)	
		S \geq	R <	S \leq	R >
Ampicilline	10	14	14	c= 8	c= 8
Amoxicilline	20	19	19	8	8
Amoxicilline + Ac. clavu	20	19	19	8	8
Ticarcilline	75	23	20	8	16
Ticarcilline + Ac. clavu	75	23	20	8	16
Céfotaxime	5	20	17	1	2