

Université Mohamed KHIDER Biskra

Faculté des Sciences Exacte et des Sciences de la Nature et de la Vie Département des  
Sciences de la Nature et de la Vie

2ème année Microbiologie Appliqué

Chargé de module : Charifi S

## TP n°5 Antibiogramme

L'antibiogramme permet de tester la sensibilité d'une souche bactérienne à différents antibiotiques. Il est essentiel pour adapter un traitement antibiotique à un patient ou pour suivre l'apparition de résistances bactériennes. La méthode de Kirby-Bauer repose sur la diffusion des antibiotiques à partir de disques imprégnés, déposés sur une gélose ensemencée avec la souche bactérienne.

Lorsque l'antibiotique inhibe la croissance, un **halo d'inhibition** apparaît autour du disque. Le diamètre de ce halo est mesuré et comparé à des normes pour déterminer si la bactérie est **Sensible (S)**, **Intermédiaire (I)** ou **Résistante (R)** à l'antibiotique.

### Matériel et réactifs

- Boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller-Hinton (MH)
- Boucle de platine stérile ou écouvillon stérile
- Pipettes et cônes stériles
- Suspension bactérienne (ex. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, etc.)
- Spectrophotomètre (optionnel pour ajuster la densité à 0,5 McFarland)
- Disques antibiotiques (ex. ampicilline, gentamicine, ciprofloxacine, etc.)
- Pince stérile ou distributeur de disques
- Incubateur réglé à 35–37 °C
- Règle millimétrée ou pied à coulisse

### Protocole

#### Préparation de la suspension bactérienne

- Prélever une colonie isolée de la souche bactérienne à tester.
- La suspendre dans une solution saline stérile jusqu'à obtenir une densité équivalente à **0,5 McFarland** (environ  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL).
- Vérification possible au spectrophotomètre (absorbance à 625 nm  $\approx$  0,08–0,1).
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension.
- Éliminer l'excès de liquide en pressant l'écouvillon sur les parois du tube.
- Ensemencer toute la surface de la gélose MH **en trois passages croisés** pour assurer une répartition homogène.
- Laisser sécher la gélose à l'air libre pendant 5 minutes.
- Déposer les disques antibiotiques à l'aide d'une pince stérile ou d'un distributeur automatique.

- Espacer les disques de manière régulière (au moins 2 cm entre deux disques).
- Étiqueter le couvercle de la boîte avec le code de chaque antibiotique.
- Incuber les boîtes retournées (couvercle vers le bas) à **35–37 °C pendant 18 à 24 heures**.

### Type de seuil Signification

**S ≥ valeur** Si le diamètre est supérieur ou égal à cette valeur, la souche est **sensible (S)**.

**R ≤ valeur** Si le diamètre est inférieur ou égal à cette valeur, la souche est **résistante (R)**.

**Entre les deux** Si le diamètre est **entre** les deux seuils, la souche est **intermédiaire (I)**.

### Cas ECBU - Escherichia coli (souche urinaire)

*Diamètres mesurés (mm) :*

*Seuils EUCAST :*

Antibiotique	Diamètre (mm)
Amoxicilline	12
Amox + ac. clav.	19
Céfotaxime (C3G)	21
Imipénème	25
Ciprofloxacine	23
Nitrofurantoïne	21

Antibiotique	Seuil S ≥	Seuil R ≤
<b>Amoxicilline</b>	17	13
<b>Amox + ac. clav.</b>	18	14
<b>Céfotaxime (C3G)</b>	26	22
<b>Imipénème</b>	22	19
<b>Ciprofloxacine</b>	25	21
<b>Nitrofurantoïne</b>	20	17

### Questions :

1. Complétez le tableau suivant :

Antibiotique	Diamètre (mm)	Catégorie (S/I/R)
Amoxicilline	12	
Amox + ac. clav.	19	
Céfotaxime	21	
Imipénème	25	
Ciprofloxacine	23	
Nitrofurantoïne	21	

Peut-on conclure que cette souche est une BLSE ? Justifier.

Quel(s) traitement(s) pourraient être envisagés ?

## PARTIE 2: Staphylococcus aureus

Diamètres mesurés :

Seuils EUCAST :

Antibiotique	Diamètre mesuré
Oxacilline	19
Cefoxitine	21
Vancomycine	16
Clindamycine	17
Érythromycine	14

Antibiotique	S $\geq$ mm	R $\leq$ mm
Oxacilline	20	19
Cefoxitine	22	21
Vancomycine	15	10
Clindamycine	19	14
Érythromycine	21	13

1.

Complétez le tableau suivant :

Antibiotique	Diamètre (mm)	Interprétation (S/I/R)
Oxacilline	19	
Cefoxitine	21	
Vancomycine	16	
Clindamycine	17	
Érythromycine	14	

1. Interprétez chaque antibiotique.
2. La souche est-elle SARM ? Justifiez.
3. Quelle molécule est utilisée contre les SARM ?