### Méthodes d’étude des antibiotiques

**CMI** = La plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible de la souche bactérienne étudiée, les conditions de culture étant standardisées.

##### METHODES D’ETUDES DE LA BACTERIOSTASE

* METHODE DE DILUTION

- **En milieu liquide**: préparation dans une série de tubes d’une gamme de concentrations d'antibiotique à tester, (par exemple 0,5 mg/l 1, 2, 4, 8, 16) puis addition d’une même quantité de germes. Après incubation à 37°C pendant 18 heures détermination de la plus faible concentration d’antibiotique inhibant la croissance bactérienne visible à l’œil nu => CMI.(2 mg/l).

**- En milieu solide:** Incorporation de l'antibiotique à une concentration donnée dans une gélose, maintenue liquide à 42°C puis coulée en boites de Petri. Après solidification les boites sont ensemencées avec les bactéries. Après incubation à 37°C pendant 18 heures la CMI est déterminée par la plus faible concentration ne donnant pas de croissance visible

* **METHODE DE DIFFUSION**

**La méthode de diffusion ou des disques en milieu solide** est la plus simple. Elle consiste à ensemencer en surface d'un milieu solide par inondation de la souche à tester. Puis à déposer des disques de papier buvard comprenant un antibiotique à une certaine concentration. Après incubation d’une nuit à 37°C. des zones d'inhibition à proximité de chaque disque sont observées. Il est possible de calculer la CMI de l'antibiotique en reportant le diamètre de la zone d’inhibition sur une courbe de concordance**,** pré-établie à l'avance avec une centaine de souches de sensibilités différentes.



**Bandelettes E-test**: Un gradient de concentrations d'antibiotque est obtenu dans une bandelette plastifiée. Après dépôt de la bandelette à la surface d'une boite de Petri ensemencée par la suspension de la bactérie à tester puis après une nuit d'incubation à 37°C, la valeur de la CMI est lue au niveau de l’intersection.

##### INTERPRETATION CMI

Comparaison de la valeur de la CMI d'un antibiotique par rapport aux deux concentrations critiques c et C (mg/l). Définies et choisies par un compromis de données bactériologiques, de cinétique et de résultats cliniques (CA-SFM)

Catégorisation de la souche en

**1/SENSIBLE:**l’antibiotique peut être efficace

**2/RESISTANT:**l’utilisation de l’antibiotique entraînera un échec.

**3/INTERMEDIAIRE:**Les souches I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible



##### METHODES D’ETUDES DE LA BACTERICIDIE

**CMB**= La plus faible concentration d'antibiotique laissant moins de 0,01% de survivants d’un inoculum initial.

**CMB/CMI**: <2Antibiotiques bactéricides

>2Antibiotiques bactériostatiques

**TOLERANCE**:  Souche tolérante si CMB/CMI > 32. Il y a dissociation entre les valeurs des CMI et des CMB. L’antibiotique reste bactériostatique mais perd son effet bactéricide.

COURBE DE BACTERICIDIE

* L'activité bactéricide des antibiotiques peut se mesurer à temps variable et consiste à déterminer le nombre de survivants au cours du temps.
* Résultats exprimés sous forme de courbe reliant le logarithme du nombre de survivants au temps  classement des antibiotiques
	+ **Antibiotiques concentrations dépendants** car l'activité bactéricide augmente avec la concentration et la vitesse de bactéricidie est rapide (ex. aminosides)
	+ **Antibiotiques temps dépendants**: l'intensité de la bactéricidie augmente avec la concentration d'antibiotique jusqu'à un certain niveau, (ex :les Béta-lactamines, les glycopeptides)

### LES ASSOCIATIONS D’ANTIBIOTIQUES

OBJECTIFS

L'utilisation d'une association d'antibiotiques est justifiée dans quatre cas:

* Elargir le spectre d'activité dans les cas d'infections à germes multiples
* Traiter en urgence une infection grave non diagnostiquée
* Prévenir la sélection de mutants résistants lors des traitements de longue durée.
* Obtention d'un effet synergique.

ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE

* Méthode par diffusion

Des bandes de papier imprégnées d’antibiotique sont disposées à angle droit à la surface d’une gélose ensemencée par la bactérie à étudier.

Observation de l'angle formé par la rencontre des deux zones d'inhibition  détermination de l'effet de l'association

L'interaction de deux antibiotiques peut produire quatre effets principaux:

* **Indifférence**:l'activité d'un antibiotique n'a aucune influence sur l'activité de l'autre.
* **Addition:** l'effet de l'association est égal à la somme des effets produits par chacun des antibiotiques pris isolément.
* **Synergie**:l'effet de l'association est supérieur à la somme des effets produits par chacun des antibiotiques pris isolément.
* **Antagonisme:** l'effet de l'association est inférieur à la somme des effets produits par chacun des antibiotiques pris isolément.
* Méthode par dilution: Echiquier

Les différentes concentrations de chaque antibiotique (A et B) sont associées entre elles 2 à 2. Chaque concentration d’un antibiotique est associée à chaque concentration de l’autre antibiotique. Après ensemencement avec la bactérie à étudier et incubation à 37°C on note les concentrations pour lesquelles se produit une inhibition de la croissance.

FIC index (fractionnal inhibitory concentration)= CIA/ B + CIB/ A

 CMI A CMI B

CIA/B= concentration inhibitrice de l’antibiotique A en présence de B

CMI A = concentration inhibitrice de l’antibiotique A seul

\*Critères d’interprétation

l’association sera **synergique** lorsque le FIC index est <0,5 l’association sera **antagoniste** lorsque le FIC index est >2 l’association sera **additive** lorsque le FIC index est = 1

l’association sera **indifférente** lorsque le FIC index est compris entre 1et 2

ACTIVITE BACTERICIDE

La cinétique de l’effet antibactérien d’une association est réalisée en numérant à intervalles régulierslesbactériessurvivantesdansletubecontenantl’associationetdanslestubescontenant chaque antibiotique isolé.

**Un effet synergique** est défini par une diminution d’au moins 2log10 par rapport à l’antibiotique le plus actif

**Un effet antagonisme** est défini par une augmentation d’au moins 2 log10 par rapport à l’antibiotique le plus actif

