

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة الصحة



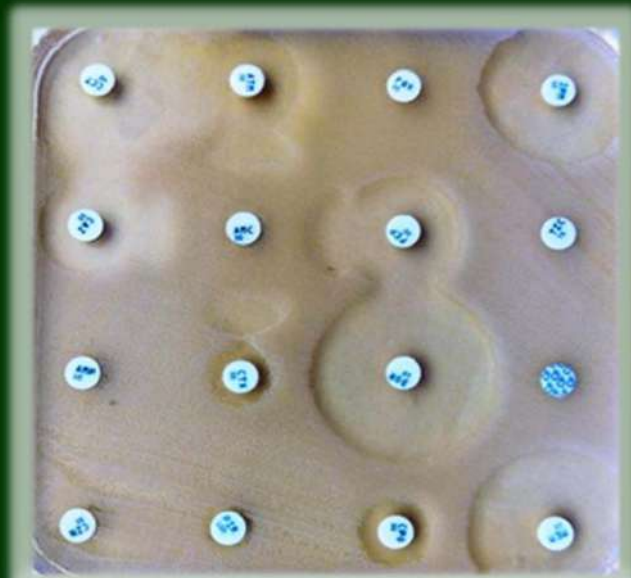
Ministère de la Santé



الشبكة الجزائرية لرصد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية
Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des
Bactéries aux Antibiotiques

RECOMMANDATIONS NATIONALES POUR LA REALISATION DES TESTS
DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

9^{ème} édition 2025



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de la Santé

Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques

RECOMMANDATIONS NATIONALES POUR LA REALISATION DES TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

(Révision des recommandations du fascicule de standardisation des
tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale)

9^{ème} édition 2025

Toute référence à ce document portera la mention suivante recommandations nationales
pour la réalisation des tests de sensibilité aux antibiotiques, 9ème Edition Janvier 2025.

<http://www.pasteur.dz/aarn>; Contact : aarn@pasteur.dz

Comité de coordination :

Dr. H. Ammari (CHU Béni Messous - Alger)
Pr. A. Benslimani (Professeur ancien Chef de service)
Dr. S. Bouheraoua (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)
Pr. S. Mahrane (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)
Pr. K. Rahal (Professeur ancien Chef de service)
Pr. H. Tali Maamar (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)
Pr. M. N. Ouar Korichi (EHS CPMC - Alger)

Comité des experts chargé de la rédaction (par ordre alphabétique) :

Pr. R. Abiyad (EHU 1^{er} novembre 1954 - **Oran**)
Pr. N. Aggoune (HCA - **Alger**)
Dr. H. Ammari (CHU Béni Messous - **Alger**)
Dr. N. Ayadi (DGPE – **Ministère de la santé**)
Pr. A. Benslimani (Professeur ancien chef de en Microbiologie - **Alger**)
Pr. C. Bentchouala (CHU Constantine - **Constantine**)
Dr. S. Bouheraoua (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)
Pr. S. Boukhalfa (CHU Batna – **Batna**)
Pr. A. Bousselham (CHU Tlemcen – **Tlemcen**)
Pr. N. Djahmi (CHU Annaba – **Annaba**)
Dr. F. Djedjig (Institut Pasteur d'Algérie – **Alger**)
Dr. M. Hamidi (EHS Zemirli – **Alger**)
Pr. S. Mahrane (Institut Pasteur d'Algérie - **Alger**)
Pr. S. Nedjai (CHU Annaba – **Annaba**)
Pr. M. N. Ouar - Korichi (EHS CPMC - **Alger**)
Pr. Dr. H. Ould Rouis (Laboratoire d'analyse Privé – **Blida**)
Pr. A. Otmane (CHU Annaba – **Annaba**)
Pr. K. Rahal (Professeur ancien Chef de service - **Alger**)
Pr. N. Ramdani (Laboratoire d'analyse Privé – Alger)
Pr. F. Sahli (CHU Sétif – **Sétif**)
Pr. H. Tali Maamar (Institut Pasteur d'Algérie - **Alger**)
Pr. H. Ziane (EHS El Kettar – **Alger**)

Corrigé par (par ordre alphabétique):

Dr. H. Ammari (CHU Beni Messous- Alger)
Pr. A. Benslimani (Professeur ancien Chef de service)
Dr. S. Bouheraoua (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)
Pr. S. Mahrane (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)
Pr. M. N. Ouar- Korichi (EHS CPMC - Alger)
Pr. K. Rahal (Professeur ancien Chef de service)
Pr. H. Tali Maamar (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)

Collaboration technique :

Dr. K. Yala (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)
Mr. C. Mahieddine (Institut Pasteur d'Algérie - Alger)

Sommaire

	Préambule	8
➤	Liste des antibiotiques à tester	9
	1. <i>Enterobacterales</i>	11
	2. Bactéries non exigeantes (<i>Enterobacterales</i> exclues)	12
	3. Bactéries exigeantes	14
	4. Bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées	15
	5. Bactéries considérées comme dangereuses	18
	6. Résistances naturelles aux antibiotiques des principales espèces bactériennes	19
➤	Techniques	23
	1. Antibiogramme par diffusion des disques	24
	2. Détermination de la CMI	27
	2.1. Technique de dilution en gélose	32
	2.2. Technique de dilution en milieu liquide	34
	2.3. Technique du E-test	37
	3. Tests complémentaires	
	3.1 Pour entérobactéries, <i>Pseudomonas</i> spp. et <i>Acinetobacter</i> spp.	39
	3.2 Pour <i>Staphylococcus</i> spp. , <i>Enterococcus</i> spp. et <i>Haemophilus</i> spp.	77
	4. Recherches particulières	
➤	Contrôle de qualité de l'antibiogramme	86
➤	Recommandations et suggestions	103
	Annexes	108
	Tables de lecture en médecine humaine	112

Liste des abréviations des antibiotiques

β-LACTAMINES		
Pénicilline	PEN	
Oxacilline	OXA	
Ampicilline	AMP	
Amoxicilline	AMX	
Amoxicilline+Ac.clavulanique	AMC	
Ticarcilline	TIC	
Ticarcilline +Ac.clavulanique	TCC	
Pipéracilline	PIP	
Céfalexine	LEX	
Céfazoline	CZO	
Céfalotine	CEF	
Céfpime	CPO	
Céfoxitine	FOX	
Céfotaxime	CTX	
Céfotétan	CTT	
Céfotétan+ Ac. boronique	CTT+bor	
Céftriaxone	CRO	
Céftazidime	CAZ	
Cloxacilline	CLOXA	
Aztréonam	ATM	
Imipénème	IPM	
Céfuroxime	CXM	
Pipéracilline+ tazobactam	TAZ	
Céftazidime+ Ac. clavulanique	CAZ CLA	
Ceftolozane+tazobactame		
Ceftazidime+avibactame		
Acide clavulanique	AC	
Imipénème+EDTA	IM+ED	
Méropénème	MER	
Ertapénème	ERT	
AMINOSIDES		
Gentamicine	GEN	
Gentamicine Haut niveau	GEH	
Streptomycine	STR	
Streptomycine Haut niveau	STH	
Kanamycine	KAN	
Amikacine	AMK	
Tobramycine	TOB	
Nétilmicine	NET	
Spectinomycine	SPT	
CYCLINES		
Tétracycline	TCY	
Doxycycline	DOX	
Minocycline	MNO	
MACROLIDES		
Erythromycine	ERY	
Azithromycine	AZM	
Clindamycine	CLI	
Pristinamycine	PRI	
Spiramycine	SPI	
Clarithromycine	CLA	
Roxithromycine	RXT	
PHENICOLES		
Chloramphénicol		CHL
POLYPEPTIDES		
Colistine		COL
GLYCOPEPTIDES		
Vancomycine		VAN
Teicoplanine		TEC
SULFAMIDES ET ASSOCIES		
Triméthoprim		TMP
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole		SXT
QUINOLONES		
Acide nalidixique		NAL
Ofloxacin		OFX
Ciprofloxacine		CIP
Lévofloxacine		LVX
Norfloxacine		NOR
Gémifloxacine		GEM
NITROFURANTOINES		
Furanes		NIT
AUTRES		
Acide fusidique		FUS
Rifampicine		RIF
Fosfomycine		FOS

Autres abréviations

American type culture collection	ATCC
Antibiotique	ATB
Bacilles à Gram Négatif	BGN
Bas Niveau de Résistance	BNR
Belgium extended spectrum β -lactamase	BEL
Beta-Lactamase Negative Ampicillin Resistant	BLNAR
Borderline Oxacillin Resistant <i>S. aureus</i>	BORSA
Brain Heart Infusion	BHI
Calcium	Ca ²⁺
Carbapenem inactivation method	CIM
Céfotaximase-Munich	CTX-M
Céphalosporinase hyperproduite	CHN
Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	C1G
Céphamycinase	CMY
Chromosome Mediated Resistant <i>N. gonorrhoeae</i>	CMRNG
Clinical and laboratory standards institute	CLSI
Concentration Minimale Inhibitrice	CMI
Contrôle de qualité	CQ
Densité Optique	DO
Dharan (Arabie Saoudite)	DHA
EDTA carbapenem inactivation method	eCIM
Entérocoque résistant aux glycopeptides	ERG
Epidemiological cut-off value	ECOFF
Ethylène- diamino-tétra-acétique	EDTA
German imipenemase	GIM
Glycopeptide Intermediate <i>S. aureus</i>	GISA
Gélose au sang frais	GSF
Haemophilus Test Medium	HTM
Haut Niveau de Résistance	HNR
Hautement chargé	HC
Imipenemase	IMP
Infection du Tractus Urinaire	ITU
Inhibiteur de β -lactamase	IBL
Intermédiaire	I
<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapénémase	KPC
Liquide céphalorachidien	LCR
Metallo- β -lactamase.	MBL
McFarland	MF
Magnésium	Mg ²⁺
Microlitre	μ l
Miriam Hospital	MIR

Modified carbapenem inactivation method	mCIM
Modified Hodge Test	MHT
Modified <i>S. aureus</i>	MODSA
Mueller- Hinton	MH
Mueller - Hinton Agar	MHA
Mueller- Hinton base ajusté en cations	MHBAC
Mueller- Hinton liquide ajusté en cations	MHLAC
New Delhi metallo- β -lactamase	NDM
Non applicable	NP
Oxacillinase	OXA
Para aminobenzoic acid	PABA
Pharmacocinétique-pharmacodynamie	PK-PD
Phenyl boronic acid	PBA
Phosphates Buffered Saline	PBS
Piquant Coupant Tranchant	PCT
<i>Pseudomonas</i> Extended Resistance	PER
Protéine de Liaison à la Pénicilline	PLP
Pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline	PSDP
<i>Pseudomonas</i> specific enzym	PSE
Poste de Sécurité Microbiologique	PSM
Quinolones	QUI
Résistant	R
<i>S. aureus</i> Résistant à la Mécilline	SARM
Sao Paulo carbapenemase	SPM
Sensible	S
<i>Serratia marcescens</i> enzyme	SME
<i>Staphylococcus Other than S. aureus</i>	SOSA
Staphylocoques à coagulase négative	SCN
Sulphydryl Variable	SHV
Susceptible Dose Dependant	SDD
Temoneira (nom du patient)	TEM
Trypticase Soy Agar	TSA
Unité formant colonie	UFC
Vancomycine Intermediate <i>S. aureus</i>	VISA
Vancomycine Resistant <i>Enterococcus</i> / Entérocoque Résistant à la Vancomycine	VRE/ ERV
Vancomycine Resistant <i>S. aureus</i>	VRSA
Verona Imipenemase	VIM
Vietnam extended spectrum β -lactamase	VEB
Volume à Volume	V/V
Zinc	Zn ²⁺
β -lactamase à spectre étendu	BLSE

Liste des Tableaux

Tableau 1	Liste des antibiotiques à tester pour les <i>Enterobacterales</i>	11
Tableau 2	Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeantes (<i>Enterobacterales</i> exclues)	12
Tableau 3	Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries exigeantes	14
Tableau 4	Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées.	15
Tableau 5	Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries considérées comme dangereuses.	18
Tableau 6	Résistances naturelles chez les entérobactéries	19
Tableau 7	Résistances naturelles chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires	20
Tableau 8	Résistances naturelles chez les staphylocoques	21
Tableau 9	Résistances naturelles chez les streptocoques et les entérocoques	21
Tableau 10	Technique d'antibiogramme (diffusion de disques antibiotiques)	25
Tableau 11	Techniques de détermination de la CMI pour certaines bactéries selon les recommandations du CLSI	27
Tableau 12	Tests de sensibilité aux antibiotiques pour les bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées	28
Tableau 13	Techniques de détermination de la CMI des antibiotiques pour les bactéries considérées comme dangereuses	30
Tableau 14	Schéma pour la préparation des dilutions d'antibiotiques	33
Tableau 15	Gamme des concentrations d'antibiotiques (CMI par technique de dilution en milieu liquide)	35
Tableau 16	Phénotypes de résistance des entérobactéries productrices de céphalosporinases de haut niveau, de BLSE et de carbapénèmases	41
Tableau 17	Préparation des boîtes de cloxacilline (ou oxacilline)	46
Tableau 18	Rappel des différents seuils de sensibilité aux carbapénèmes	51
Tableau 19	Interprétation du test mCIM	53
Tableau 20	Interprétation du test eCIM	55
Tableau 21	Interprétation des résultats des différents tests de détection des carbapénèmases	60
Tableau 22	Détection phénotypique des différents mécanismes affectant l'activité des β -lactamines chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
Tableau 23	Détection phénotypique des différents mécanismes affectant l'activité des β -lactamines chez <i>Acinetobacter baumannii</i>	64
Tableau 24	Préparation des boîtes de cloxacilline (ou oxacilline)	66

Tableau 25	Récapitulatif des tests de recherche de carbapénèmases	67
Tableau 26	Types de β -lactamases et autres mécanismes affectant l'activité des β -lactamines chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	67
Tableau 27	Types de β -lactamases et autres mécanismes affectant l'activité des β -lactamines chez <i>Acinetobacter baumannii</i>	68
Tableau 28	Gamme de concentration des antibiotiques (CMI par technique de dilution en milieu liquide)	69
Tableau 29	Tableau récapitulatif des différentes recherches complémentaires	77
Tableau 30	Screening tests pour la détection de la résistance à la méticilline (résistance à l'oxacilline) chez <i>Staphylococcus</i> spp.	78
Tableau 31	Phenotypes de résistance aux glycopeptides	82
Tableau 32	Screening de la résistance à la vancomycine chez <i>S.aureus</i> et <i>Enterococcus</i> spp .	83
Tableau 33	Caractéristiques des souches de référence	87
Tableau 34	Rythme de réalisation des CQ par la méthode de diffusion des disques	92
Tableau 35	Indicateurs pour la résolution des contraintes liées à la mise en place des tests CQ par la méthode de diffusion	93
Tableau 36	Rythme de réalisation des CQ par la méthode de la CMI	96
Tableau 37	Conservation et utilisation des bandelettes E-test	97
Tableau 38	Indicateurs pour la résolution des contraintes liées à la mise en place des tests CQ par technique de CMI	98
Tableau 39	Liste des solvants pour la préparation des solutions antibiotiques	110

Liste des figures

Figure 1	Souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de BLSE (test de synergie)	43
Figure 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de BLSE (test du double disque positif)	44
Figure 3	CMI E-test combiné CTX et CTX+Acide clavulanique	45
Figure 4	Test à la cloxacilline sur une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i> : BLSE (-) et CHN (+)	47
Figure 5	Comparaison entre le test de confirmation pour les BLSE et le test à l'acide boronique pour la détection des Amp C	48
Figure 6	Recherche de β -lactamases (BLSE et Amp C)	49
Figure 7	Algorithme proposé pour la détection de BLSE et CHN chez les entérobactéries	50
Figure 8	Etapes de réalisation du test mCIM	53
Figure 9	Test mCIM	54
Figure 10	Test par inactivation des carbapénèmes CIM	54
Figure 11	Test mCIM et eCIM combinées	55
Figure 12	Test à l'EDTA positif, techniques du disque combiné et du E-test	56
Figure 13	Test à l'acide phényl boronique positif : technique du disque combiné	57
Figure 14	Test immunochromatographique pour la détection des carbapénémases de type OXA-48	59
Figure 15	Algorithme de détection des carbapénémases chez les entérobactéries	61
Figure 16	Algorithme de détection phénotypique des mécanismes de résistance aux β -lactamines chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
Figure 17	Algorithme de détection phénotypique des mécanismes de résistance aux β -lactamines chez <i>Acinetobacter baumannii</i>	65
Figure 18	Aztreonam + Ceftazidim – Avibactam Broth Disk Elution : <i>K. pneumoniae</i> ATCC BAA - 2146	73
Figure 19	Détection de la β - lactamase chez <i>Haemophilus</i> spp. par la technique microbiologique (test du trèfle)	80
Figure 20	Algorithme décisionnel pour l'étude de la sensibilité de <i>S.aureus</i> aux glycopeptides	81
Figure 21	Rythme du contrôle de qualité	90

Préambule

En microbiologie médicale, les tests de sensibilité aux antibiotiques représentent l'étape ultime du diagnostic au laboratoire, ils ont une place importante dans le choix de l'antibiothérapie. La lecture et l'interprétation des résultats de ces tests exige l'application de normes et une expertise du microbiologiste responsable de la validation des résultats. A travers l'interprétation des tests de sensibilité aux antibiotiques, le microbiologiste joue un rôle important dans la thérapeutique antibactérienne mais aussi dans la surveillance de la résistance aux antibiotiques.

Plusieurs techniques phénotypiques sont utilisées : tests en milieu gélosé (antibiogramme), détermination des concentrations minimales inhibitrices (techniques manuelles ou automatisées). Bien que des tests moléculaires existent pour la détection rapide des mécanismes de résistances, les tests phénotypiques restent le gold standard pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques.

Ce document représente la 9^{ème} édition des recommandations nationales pour la réalisation des tests de sensibilité aux antibiotiques. Il s'agit d'un document technique s'adressant :

- aux microbiologistes ou biologistes exerçant dans un laboratoire d'analyse médicale et devant rendre un résultat de tests de sensibilité aux antibiotiques.
- aux microbiologistes membres du réseau national de la surveillance de la résistance aux antibiotiques (*arrêté n°36 du 10 novembre 2022, portant organisation du réseau national de surveillance de la résistance aux antibiotiques – Ministère de la santé*)

Il comprend 4 sections principales :

- Les listes des antibiotiques à tester basées sur la nomenclature nationale
- Les techniques et modes opératoires
- Les tests de contrôle de qualité
- Les tables des valeurs critiques d'interprétations (en annexes)

La principale nouveauté de cette 9^{ème} édition est dans la présentation de la liste des antibiotiques à tester, qui sont classés en 4 catégories :

- Antibiotiques de première intention, testés en routine, rendus à l'antibiogramme ;
- Antibiotiques testés en routine mais rendus à l'antibiogramme seulement en cas de résistance aux antibiotiques de première intention ;
- Antibiotiques testés en routine et rendus pour des cas à haut risque de Bactéries Hautement Résistantes émergentes ou Bactéries toto-résistantes ;
- Antibiotiques à visée diagnostic ou de détection de mécanismes de résistance aux antibiotiques et ne sont pas rendus avec les résultats.

Les recommandations nationales pour la réalisation des tests de sensibilité aux antibiotiques visent à harmoniser les techniques de laboratoires, pour des données d'antibiogrammes fiables et reproductibles, générant des données qui serviront de guide aux cliniciens.

Prof. Hassiba TALI MAAMAR
Coordinatrice du réseau AARN

Listes des antibiotiques à tester

Listes des antibiotiques à tester

<i>Enterobacterales</i>
Bactéries non exigeantes (<i>Enterobacterales</i> exclues)
Bactéries exigeantes
Bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées
Bactéries considérées comme dangereuses
Résistances naturelles aux antibiotiques des principales espèces bactériennes

Tableau 1 : Liste des antibiotiques à tester pour les *Enterobacterales*

Catégorie	<i>Enterobacterales</i> (<i>Salmonella</i> / <i>Shigella</i> EXCLUES)	<i>Salmonella</i> / <i>Shigella</i>
Antibiotiques de première intention, testés en routine, rendus à l'antibiogramme	Ampicilline ^a (10µg)	Ampicilline ^a (10µg)
	Amoxicillin-Acide clavulanique (20/10µg)	Ciprofloxacine (5µg)
	Cefazoline ^c (30µg)	Cefotaxime ^b (30µg) ou ceftriaxone ^b (30µg)
	Cefoxitine (30µg)	Trimethoprim-Sulfamethoxazole (1.25/23.75µg)
	Cefotaxime ^b (30µg) ou ceftriaxone ^b (30µg)	
	Gentamicine (30µg)	
	Ciprofloxacine (5µg)	
	Chloramphenicol (30µg)	
	Trimethoprim-Sulfamethoxazole (1.25/23.75µg)	
	Furanes ^f (300µg)	
Antibiotiques testés en routine mais rendus à l'antibiogramme seulement en cas de résistance aux antibiotiques de première intention	Fosfomycine 200 ^f	
	Ertapeneme (10µg)	Azithromycine (15µg)
	Imipeneme (10µg)	Chloramphenicol (30µg)
	Meropeneme (10µg)	
	Amikacine (30µg)	
Antibiotiques testés en routine et rendus pour des cas à haut risque de BHR ou totoR	Pipéracilline-tazobactam (100/10µg)	
	Ceftazidime-Avibactam (30/20µg)	Ertapeneme (10µg)
	Ceftolozane-Tazobactam (30/10µg)	Imipeneme (10µg)
Antibiotiques à visée diagnostic ou de détection de mécanismes de résistance aux antibiotiques <u>Ne pas rendre le résultat</u>	Colistine (CMI)	Meropeneme (10µg)
	Aztreonam (30µg)	Pefloxacine (5µg) ****
	Ac nalidixique (30µg)	Furanes (300µg)

a : réponse valable pour l'amoxicilline ; b : réponse valable pour céftriaxone, céfixime, céfoperazone, céfdinir et céfpodoxime sauf en cas de BLSE, se référer à la page 42 ; c : réponse valable pour les céphalosporines orales (céfalotine, céfalexine, céfradine, céfclor, céfdinir, cefuroxime) pour les infections urinaires non compliquées à *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis* ; f: rendre le résultat pour les infections urinaires ; **** : disque antibiotique de la pefloxacine peut être utilisé pour détecter la résistance à la ciprofloxacine

Tableau 2 (a): Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeantes (*Enterobacterales exclues*)

Catégorie	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.
Antibiotiques de première intention, testés en routine, rendus à l'antibiogramme	Pénicilline (10UI)	Ampicilline ^a (10µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10µg)	Ticarcilline + acide clavulanique (75/10µg)
	Oxacilline (CMI)	Erythromycine (15µg)	Pipéracilline (100µg)	Pipéracilline (100µg)
	Gentamicine (10µg)	Pristinamycine (15µg) /Quinupristine-dalfopristine (15µg)	Pipéracilline + tazobactam (100 µg/10 µg)	Pipéracilline + tazobactam (100 µg/10 µg)
	Erythromycine (15µg)	Furanes (300µg)	Ceftazidime (30µg)	Ceftazidime (30µg)
	Clindamycine (2µg)	Tétracycline ^c (30µg)	Amikacine (30µg)	Gentamicine (10µg)
	Pristinamycine (15µg) /Quinupristine-dalfopristine (15µg)	Fosfomycine ^j (200µg)	Tobramycine (10µg)	Tobramycine (10µg)
	Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)		Ciprofloxacine (5µg)	Ciprofloxacine (5µg)
	Tétracycline ^c (30µg)			Doxycycline ^c (30µg)
	Acide fusidique (10µg)			Minocycline (30µg)
				Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)
Antibiotiques testés en routine mais rendus à l'antibiogramme seulement en cas de résistance aux antibiotiques de première intention	Ceftaroline (30µg)	Vancomycine (30µg)	Imipénème (10µg)	Imipénème (10µg)
	Cipofloxacine (5µg)	Teicoplanine (30µg)	Méropénème (10µg)	Méropénème (10µg)
	Lévofloxacine (5µg)	Ciprofloxacine (5µg)	Lévofloxacine (5µg)	Amikacine (30µg)
	Chloramphénicol (30µg)**	Lévofloxacine (5µg)		Lévofloxacine (5µg)
	Vancomycine (CMI) ^k	Rifampicine (5µg)		
	Teicoplanine (CMI) ^k	Chloramphénicol (30µg)		
	Rifampicine (5µg)			
Antibiotiques testés en routine et rendus pour des cas à haut risque de BHR ou totoR	Fosfomycine (IV)			
	Linezolid (30µg)	Tigécycline (CMI)	Colistine (CMI)	Colistine (CMI)
		Linezolid (30µg)	Ceftolozane tazobactame (30/10µg)	Tigécycline
Antibiotiques à visée diagnostic ou de détection de mécanismes de résistance aux antibiotiques <u>Ne pas rendre le résultat</u>			Ceftazidime avibactame (30/20µg)	
	Céfoxitine (30µg)	Imipénème (10µg)	Aztréonam (30µg)	
	Composé vibriostatique O/129			

** : ne pas répondre pour les infections urinaires f : interprétation valable pour azithromycine ; j : Tester pour les infections urinaires à *E.faecalis*, k : Voir chapitre recherche complémentaire ;

Tableau 2 (b): Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries non exigeantes (*Enterobacterales exclues*)

Catégorie	<i>S. maltophilia</i>	<i>Vibrio</i> spp.	Autres bactéries non fermentaires
Antibiotiques de première intention, testés en routine, rendus à l'antibiogramme	Ticaracilline+ acide clavulanique (CMI)	Ampicilline ^a (10µg)	Céfotaxime ^b (CMI)
	Chloramphenicol (CMI)	Amoxicilline + acide clavulanique (20/10µg)	Ceftazidime (CMI)
	Minocycline ^c (30µg)	Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)	Gentamicine (CMI)
	Lévofloxacine (5µg)	Azithromycine ^k (CMI)	Chloramphénicol (CMI)**
	Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)		Triméthoprim + sulfaméthoxazole (CMI)
Antibiotiques testés en routine mais rendus à l'antibiogramme seulement en cas de résistance aux antibiotiques de première intention		Céfotaxime ^b (30µg)	Imipénème (CMI)
		Tétracycline ^c (30µg)	Amikacine (CMI)
		Furanes (300µg)	Doxycycline (CMI)
		Ciprofloxacine (5µg)	Ciprofloxacine (CMI)
		Chloramphénicol ^k (30µg)	
Antibiotiques à visée diagnostic ou de détection de mécanismes de résistance aux antibiotiques <u>Ne pas rendre le résultat</u>		Colistine (10µg)	
		Composé vibriostatique O/129	

** : non reporté pour les souches isolées d'infections urinaires a : réponse d'interprétation valable pour l'amoxicilline ; b : réponse d'interprétation valable pour céftriaxone, céfixime, céfoperazone, céfdinir et céfpodoxime sauf en cas de BLSE; c : réponse d'interprétation valable pour tétracycline et doxycycline ; k : valable uniquement pour *V.cholerae* ;

Tableau 3: Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries exigeantes

<i>Haemophilus spp.</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus spp.</i> Groupe viridans	<i>Streptococcus</i> β-hémolytique
Ampicilline ^a (10µg)	Pénicilline (10UI)	Pénicilline (CMI)	Amoxicilline + ac. clavulanique (20/10µg)	Pénicilline (CMI)	Pénicilline (CMI)	Pénicilline (10UI)
Ampicilline (2µg)	Céftriaxone ^b (30µg)	Ampicilline ^a (CMI)	Céfotaxime (CMI) /Céftriaxone (CMI)	Oxacilline ^d (1 µg)	Ampicilline (CMI)	Ampicilline ^a (10UI)
Amoxicilline + ac. clavulanique (CMI)	Azithromycine (15µg)	Céfotaxime (30µg)/ Céftriaxone (30µg)	Azithromycine (15µg)	Amoxicilline pour autre que LCR (CMI)	Céfotaxime (30µg)	Erythromycine ^f (15µg)
Céfotaxime ^b (30µg)	Tétracycline ^c (30µg)	Rifampicine (5µg)	Ciprofloxacine (CMI)	Céfotaxime (CMI)	Pristinamycine (15µg) /Quinupristine-dalfopristine (15µg)	Clindamycine (2µg)
Tétracycline ^c (30µg)	Spectinomycine (100µg)	Chloramphénicol (30µg)	Lévofloxacine (CMI)	Imipénème (CMI)	Tétracycline ^c (30µg)	Pristinamycine (15µg) /Quinupristine-dalfopristine (15 µg)
Azithromycine (15µg)	Ciprofloxacine (5µg)	Ciprofloxacine ^e (5µg)	Tétracycline ^c (30µg)	Erythromycine (15µg)	Gentamicine (CMI pour infections graves)	Tétracycline ^c (30µg)
Acide nalidixique (30µg)		Azithromycine ^f (15µg)	Chloramphénicol (CMI)	Clindamycine (2µg)	Vancomycine (30µg)	Ofloxacine (5µg)
Ciprofloxacine (5µg)			Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)	Pristinamycine (15µg) / Quinupristine-dalfopristine (15µg)	Chloramphénicol (30µg)	Lévofloxacine (5µg)
Lévofloxacine (5µg)				Chloramphénicol (30µg)	Rifampicine (30µg)	Vancomycine (30µg)
Chloramphénicol (30µg)				Rifampicine (5µg)	Erythromycine ^f (15µg)	Chloramphénicol (30µg)
Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)				Triméthoprim + sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg)	Ofloxacine (5µg)	Gentamicine (500µg)
Rifampicine (5µg)				Vancomycine (30µg)	Lévofloxacine (5µg)	
				Lévofloxacine (5µg)	Clindamycine (2µg)	
				Doxycycline (30µg)		
				Gémifloxacine (5µg)		

a : réponse d'interprétation valable pour l'amoxicilline

b : réponse d'interprétation valable pour céftriaxone, céfixime, céfopérazone, céfdinir et céfpodoxime

c : réponse d'interprétation valable pour tétracycline et doxycycline

d : réponse d'interprétation valable pour la détection des PSDP

e : marqueur de résistance

f : réponse d'interprétation valable pour spiramycine et azithromycine

Tableau 4 : Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées

Groupe HACEK ^a (CMI)	<i>B. pertussis</i> ^b	<i>Pasteurella</i> spp.	<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i> (CMI)	<i>Aeromonas</i> spp. ^c
Pénicilline Ampicilline ^d Amoxicilline+ac clavulanique Céfotaxime Céftriaxone Imipénème Azithromycine Clarithromycine Ciprofloxacine Lévofloxacine Tétracycline Chloramphénicol Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	Ampicilline ^d (10 µg) Céfalexine ^e (30 µg) Erythromycine (15µg) Spiramycine (15µg) Azithromycine (15µg) Clarithromycine (15µg) Gentamicine (10µg) Acide nalidixique (30µg) Ofloxacine (5µg) Triméthoprim+ sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg) Doxycycline (30µg)	Pénicilline (10 U) Ampicilline ^d (10 µg) Amoxicilline (CMI) Amoxicilline+ac. clavulanique (20/10 µg) Céftriaxone (30 µg) Erythromycine (15 µg) Azithromycine (15 µg) Lévofloxacine (5 µg) Tétracycline (30 µg) Doxycycline (30 µg) Chloramphénicol (30µg) Triméthoprim+ sulfaméthoxazole (1.25/23.75 µg)	Erythromycine ^f (15µg) Ciprofloxacine (5 µg) Acide nalidixique ^e (5µg) Tétracycline ^g (30µg) Doxycycline (CMI)	Clarithromycine	Amoxicilline+ac .clavulanique (20/10µg) ^h Céfoxitine (30µg) Céfotaxime (30µg) Céftazidime (30µg) Ertapénème (10µg) Imipénème (10µg) Aztréonam (30µg) Gentamicine (10µg) Amikacine (30µg) Tétracycline (30µg) Ciprofloxacine (5µg) Lévofloxacine (5µg) Triméthoprim+ sulfaméthoxazole (1.25/23.75µg) Chloramphenicol (30µg)

a : HACEK : *Haemophilus parainfluenzae*, *Aggregatibacter* spp. (*A.actinomycetemcomitans*, *A.aphrophilus*, *A.paraphrophilus*, et *A.segnis*), *Cardiobacterium hominis* et *valvarum*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae* et *denitrificans*

b : la lecture et l'interprétation de l'antibiogramme se font par rapport à la souche de référence (absence de valeurs critiques).

c : sont inclus *Aeromonas caviae* Complex, *Aeromonas hydrophila* Complex et *Aeromonas veronii* Complex.

d : réponse d'interprétation valable pour l'amoxicilline.

e : aide à l'identification.

f : réponse d'interprétation valable pour l'azithromycine.

g : les souches sensibles à la tétracycline sont aussi considérées sensibles à la doxycycline

h : pour la détection des BLSE.

Tableau 4 (suite) : Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées

<i>Abiotrophia</i> spp. et <i>Granulicatella</i> spp. (CMI)	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> (CMI)	<i>Listeria monocytogenes</i> (CMI)	<i>Corynebacterium</i> spp. et genres corynéformes apparentésⁱ(CMI)	<i>Bacillus</i> spp. (hors <i>B. anthracis</i>) et genres apparentés^j(CMI)	Bactéries anaérobies strictes (CMI)
Pénicilline Ampicilline ^d Céfotaxime/ Céftriaxone Imipénème Vancomycine Erythromycine Clindamycine Ciprofloxacine Lévofloxacine Chloramphénicol	Pénicilline Ampicilline ^d Céfotaxime Céftriaxone Imipénème Erythromycine Clindamycine Ciprofloxacine Lévofloxacine	Pénicilline Ampicilline ^d Céfotaxime ^e Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	Pénicilline Céfotaxime Ceftriaxone Vancomycine Gentamicine Erythromycine Clindamycine Pristinamycine /Quinupristine - Dalfopristine Ciprofloxacine Tétracycline/ Doxycycline Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	Pénicilline Ampicilline ^d Imipénème Vancomycine Gentamicine Amikacine Erythromycine Tétracycline Ciprofloxacine Lévofloxacine Clindamycine Triméthoprim+ sulfaméthoxazole Chloramphénicol	Pénicilline Ampicilline ^d Amoxicilline+ ac.clavulanique Pipéracilline Ticaracilline+ acide clavulanique Céfoxitine Céfotaxime Céftriaxone Imipénème Ertapénème Tétracycline Clindamycine Chloramphénicol Métronidazole Kanamycine ^e Colistine ^e

d : réponse d'interprétation valable pour l'amoxicilline

i : les genres corynéformes incluent *Arcanobacterium* spp., *Arthrobacter* spp., *Brevibacterium* spp., *Cellulomonas* spp., *Cellulosimicrobium* spp., *Dermabacter* spp., *Leifsonia* spp., *Microbacterium* spp., *Oerskovia* spp., *Rothia* spp. (*Rothia mucilaginosa* exclu), *Trueperella* spp. et *Turicella* spp.

j : les genres apparentés incluent *Brevibacillus* spp., *Cohnella* spp., *Lysinibacillus* spp., *Paenibacillus* spp. et *Sporolactobacillus* spp.

e : aide à l'identification

Tableau 4 (suite) : Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées

<i>Lactobacillus</i> spp. (CMI)	<i>Leuconostoc</i> spp. (CMI)	<i>Pediococcus</i> spp. (CMI)	<i>Aerococcus</i> spp.^k (CMI)	<i>Gemella</i> spp. (CMI)	<i>Lactococcus</i> spp. (CMI)	<i>Micrococcus</i>^l spp. (CMI)	<i>Rothia mucilaginosa</i> (CMI)
Pénicilline Ampicilline Imipénème Vancomycine Erythromycine Clindamycine	Pénicilline Ampicilline Minocycline Chloramphénicol	Pénicilline Ampicilline Imipénème Chloramphénicol	Pénicilline Céfotaxime Ceftriaxone Vancomycine Ciprofloxacine Lévofloxacine Tétracycline Triméthoprim- Sulfaméthoxazole	Pénicilline Céfotaxime Ceftriaxone Vancomycine Erythromycine Lévofloxacine Clindamycine	Pénicilline Ampicilline Ceftriaxone Vancomycine Tétracycline Erythromycine Clindamycine	Pénicilline Vancomycine Erythromycine Clindamycine	Pénicilline Vancomycine Erythromycine Clindamycine Lévofloxacine Triméthoprim- Sulfaméthoxazole

k : sont inclus *Aerococcus urinae*, *Aerococcus viridans*, *Aerococcus sanguincola*.

l : l'application de ces critères d'interprétation aux bactéries anciennement incluses dans le genre *Micrococcus* (soit *Kocuria* spp., *Nesterenkonia* spp., *Dermacoccus* spp., *Kytococcus* spp.) peut être considérée.

Tableau 5 : Liste des antibiotiques à tester pour les bactéries considérées comme dangereuses.

<i>Bacillus anthracis</i> (CMI)	<i>Yersinia pestis</i> (CMI)	<i>Burkholderia mallei</i> (CMI)	<i>Burkholderia pseudomallei</i> (CMI)	<i>Francisella tularensis</i> (CMI)	<i>Brucella</i> spp. (CMI)
Pénicilline ^a Amoxicilline ^b Ciprofloxacine Lévofloxacine Tétracycline Doxycycline	Streptomycine Gentamicine Ciprofloxacine Lévofloxacine Tétracycline Doxycycline Chloramphenicol Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	Ceftazidime Imipénème Tétracycline Doxycycline	Amoxicilline+ac .clavulanique Ceftazidime Imipénème Tétracycline Doxycycline Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	Streptomycine Gentamicine Ciprofloxacine Lévofloxacine Tétracycline Doxycycline Chloramphenicol	Streptomycine Gentamicine Tétracycline Doxycycline Triméthoprim+ sulfaméthoxazole

a : les souches sensibles à la pénicilline sont aussi considérées sensibles à l'amoxicilline.

b : l'amoxicilline peut être considérée pour la prophylaxie chez l'enfant, la femme enceinte et la femme qui allaite.

RESISTANCES NATURELLES AUX ANTIBIOTIQUES DES PRINCIPALES ESPECES BACTERIENNES

1- Bacilles à Gram négatif non exigeants :

Pénicilline G, oxacilline, macrolides (érythromycine), lincosamides (lincomycine), streptogramines (pristinamycine), acide fusidique, glycopeptides (vancomycine).

1.1- Entérobactéries :

Tableau 6: Résistances naturelles chez les entérobactéries

Espèces bactériennes	β-lactamines							TCY	TIG	COL	NIT
	AMP AMX	AMC	TIC	PIP	C1G	FOX	IPM				
<i>Escherichia coli</i>											
<i>Salmonella</i> spp.											
<i>Shigella</i> spp.											
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	R		R								
<i>Citrobacter koseri</i>	R		R	R							
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R			R	R					
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R			R	R					
<i>E. aerogenes</i>	R	R			R	R					
<i>Serratia marcescens</i>	R	R			R	R				R	R
<i>Proteus mirabilis</i>							s	R	R	R	R
<i>Proteus penneri</i>	R				R		s			R	
<i>Proteus vulgaris</i>	R				R		s	R	R	R	R
<i>Morganella morganii</i>	R	R			R		s	R	R	R	R
<i>Providencia stuartii</i>	R	R			R		s	R	R	R	R
<i>Providencia rettgeri</i>	R	R			R		s		R	R	
<i>Y. enterocolitica</i>	R	R	R		R						

R : résistance naturelle

s : espèces pouvant présenter des CMI élevées à l'imipénème

1.2- Autres bacilles à Gram négatif non exigeants :

Pseudomonas aeruginosa : aminopénicillines, céphalosporines 1^{ère} et 2^{ème} génération, céfotaxime, céftriaxone, kanamycine, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprim, quinolones.

Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter calcoaceticus : aminopénicillines, céphalosporines 1^{ère} et 2^{ème} génération, fosfomycine, triméthoprim, furanes.

Autres bacilles à Gram négatif non fermentaires : aminopénicillines, céphalosporines 1^{ère} et 2^{ème} générations et ertapénème.

Tableau 7: Résistances naturelles chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires

Espèces bactériennes	TIC	PIP	CTX/ CRO	CAZ	IPM	MER	ERT	TCY / TIG	CHL	SXT	FOS	COL
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	R	R	R		R	R	R	*			R	
<i>Burkholderia cepacia</i>	R	R	R		R		R				R	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			R				R	R	R	R		
<i>Acinetobacter baumannii</i>							R				R	

R : résistance naturelle

* : espece résistante a la tétracycline mais non à la tigecycline

2- Cocci à Gram positif :

Les cocci à Gram positif sont naturellement résistants à l'aztréonam, aux quinolones et à la colistine.

Tableau 8 : Résistances naturelles chez les staphylocoques

Espèces bactériennes	Novobiocine	Fosfomycine	Acide fusidique
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>			
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>			
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	R	R	R
<i>Staphylococcus capitis</i>		R	
<i>Staphylococcus cohnii</i>	R		
<i>Staphylococcus xylosus</i>	R		

Tableau 9 : Résistances naturelles chez les streptocoques et les entérocoques

Espèces bactériennes	Céphalosporines	Aminosides	Vancomycine	Teicoplanine	Clindamycine	Quinudalfopristine	Pristinamycine	Triméthoprine + Sulfaméthoxazole
<i>Enterococcus faecalis</i>	R	r*			R	R	R	R
<i>Enterococcus faecium</i>	R	r*			R			R
<i>Enterococcus gallinarum</i> / <i>Enterococcus casseliflavus</i>	R	r*	R		R	R	R	R
<i>Streptococcus</i> spp.		r*						

* : Résistance naturelle de bas niveau

Techniques

1- Antibiotogramme par diffusion des disques

1-1- Milieu pour antibiotogramme :

- Le milieu adéquat doit être coulé en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

1-2- Préparation de l'inoculum :

- A 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. Dans le cas de *Streptococcus* spp. et d'*Haemophilus* spp. utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Dans le cas de *Neisseria gonorrhoeae*, décharger l'anse dans 1 à 2 ml de tampon phosphate stérile à pH 7,2.
- 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. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

1- 3- Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

1- 4- Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
- Pour les bactéries exigeantes (*Streptococcus* spp. , *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus* spp.....), ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.
- La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée figure dans les tableaux n° 1, 2 et 3.

1-5- Conditions d'incubation :

Respecter la température, l'atmosphère et la durée d'incubation recommandées pour chaque bactérie (voir tableau n°10).

1-6- Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée.
- Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Petri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories Résistant (R), Sensible (S) ou Intermédiaire (I).

Tableau 10 : Technique d'antibiogramme (diffusion de disques antibiotiques).

Microorganismes	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation
<i>Enterobacterales</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp. , <i>Staphylococcus</i> spp. , <i>Enterococcus</i> spp. , <i>Vibrio</i> spp. <i>Aeromonas</i> spp., <i>Plesiomonas</i> spp. , autres bactéries non exigeantes	Gélose Mueller-Hinton	0,5 MF en eau physiologique	18 heures (à prolonger pour OXA et VAN/TEC) 35°C Atmosphère ordinaire
<i>Streptococcus</i> spp.	Gélose Mueller-Hinton + 5% sang de mouton	0,5 MF en eau physiologique	20-24 heures 35°C 5%CO2
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Gélose GC+ 1% supplément*	0,5 MF en tampon PBS	20-24 heures 35°C 5% CO2
<i>Neisseria meningitidis</i>	Gélose Mueller-Hinton + 5% sang de mouton	0,5 MF en tampon PBS ou eau physiologique	18-24 heures 35°C 5% CO2 Atmosphère humidifiée
<i>Haemophilus</i> spp.	Gélose Haemophilus Test Medium*	0,5 MF en eau physiologique	16 – 18 heures 35°C 5% CO2

* : voir composition en annexe

1-7-Contrôle de qualité :

Pour chaque espèce bactérienne testée, un contrôle de qualité est réalisé dans les mêmes conditions (tables de lecture pages 126-129).

2- Détermination de la CMI :

Dans le cas de certaines souches (*Neisseria meningitidis*, *Streptococcus* spp. Groupe *viridans*, *Streptococcus pneumoniae* et *Listeria monocytogenes*), la technique de l'antibiogramme n'est pas validée pour certaines molécules antibiotiques. Pour ces molécules, la sensibilité de ces germes est appréciée uniquement par la détermination de la CMI, soit par la technique de référence, soit par une autre technique, recommandée par des travaux publiés.

Certaines bactéries à croissance difficile et/ou rarement incriminées dans les infections ont fait l'objet d'une standardisation de la technique d'étude de la sensibilité aux antibiotiques selon les recommandations du CLSI : rapports M45 A3, 3^{ème}ed. Aout 2016 et M100 35th ed. Janvier 2025 et EUCAST 2025.

La technique de diffusion des disques n'est pas validée pour ces germes. La technique recommandée est la détermination de la CMI par dilution en milieu Mueller-Hinton liquide ajusté en cations. Ce milieu est supplémenté de 2,5 à 5% v/v de sang de cheval lysé et parfois de facteurs de croissance selon les espèces bactériennes testées (voir tableau n°12).

Tableau 11 : Techniques de détermination de la CMI pour certaines bactéries selon les recommandations du CLSI*

Microorganismes	Antibiotiques	Technique recommandée	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation	Souches de référence
<i>Neisseria meningitidis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Pénicilline G • Ampicilline 	Dilution en gélose	MHA + 5% sang de mouton frais défibriné	1 MF Eau physiologique ou PBS Spots de 1µl	20-24 H 35°C ± 2°C Sous 5%CO2 + humidité	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
		Dilution en milieu liquide	MHLAC+ 2-5% sang de cheval hémolysé	1 MF Eau physiologique ou PBS	20-24 H 35°C ± 2°C Sous 5%CO2 + humidité ou air ambiant	
<i>Streptococcus</i> spp. Groupe <i>viridans</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Pénicilline G 	Dilution en gélose	MHA + 5% sang de mouton frais	0,5 MF Eau physiologique	35°C ± 2°C 20-24 H 5% CO2	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Pénicilline G • Amoxicilline (sauf LCR) • Céfotaxime • Imipénème 	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2.5-5%(V/V) sang de cheval hémolysé et défibriné	0,5 MF Eau physiologique	20-24 H 35°C ± 2°C Air ambiant	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
<i>Listeria monocytogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Pénicilline G • Ampicilline • Triméthoprim + sulfaméthoxazole 	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2.5-5% sang de cheval hémolysé	0,5 MF Eau physiologique	35°C 20-24 H	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
<i>Bordetella pertussis</i>	Erythromycine, josamycine, azithromycine, clarithromycine	Dilution en gélose	MHA + 10% sang de cheval frais	0,5 MF en MHLAC dilué au 1/10 ^{ème} Spots de 10 ⁴ UFC/ml (1 à 2 µl)	48-72 H 35°C	<i>B.pertussis</i> ATCC 9797 <i>S.aureus</i> ATCC 29213
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	Erythromycine, ciprofloxacine, tétracycline, doxycycline	Dilution en milieu liquide	MHLAC+ 2-5% sang de cheval hémolysé	0,5 MF Eau physiologique	36-37°C 48h ou 42°C 24h microaérophilie	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33560

MHLAC : Mueller-Hinton liquide ajusté en cations

MHA : Mueller-Hinton agar

MF : McFarland

* consulter le chapitre : tests complémentaires pour *S.aureus*, *Enterococcus* spp. et *Acinetobacter* spp.

Tableau 12 : Tests de sensibilité aux antibiotiques pour les bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées

Microorganismes	Technique de CMI	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation	Technique d'antibiogramme	Contrôle de qualité
<i>Abiotrophia granulicatella</i>	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2,5 à 5% sang de cheval lysé + 0,01% Pyridoxal	0,5 MF	20 -24h 35°C Atm.ordinaire	NA	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
HACCEK*	Dilution en milieu liquide	MHLAC + sang de cheval lysé (2,5 – 5% v/v)	0,5 MF	24 -48 h 35°C Sous 5% CO2	NA	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>E. coli</i> ATCC 35218 (AMC)
<i>Bacillus</i> autre que <i>B.anthraxis</i>	Dilution en milieu liquide	MHLAC	0,5 MF	16 -20h 35°C Atm.ordinaire	NA	<i>S.aureus</i> ATCC 29213
<i>Corynebacterium</i> spp.	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2,5 à 5% sang de cheval lysé	0,5 MF	24-48 h 35°C Atm.ordinaire	NA	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>E.coli</i> ATCC 25922 (GEN)
<i>Erysipelothrix rhusiopathie</i>	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2,5 à 5% sang de cheval lysé (v/v)	0,5 MF	20 -24h 35°C Atm.ordinaire	NA	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
<i>Lactobacillus</i> spp.	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2,5 à 5% sang de cheval lysé (v/v)	0,5 MF	24- 48 h 35°C 5% CO2	NA	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>E.coli</i> ATCC 25922 (GEN)
<i>Leuconostoc</i> spp.	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2,5 à 5% sang de cheval lysé (v/v)	0,5 MF	20 -24h 35°C Atm.ordinaire	NA	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>E.coli</i> ATCC 25922 (GEN)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Dilution en milieu liquide	MHLAC	0,5 MF	20 -24h 35°C Atm.ordinaire	MH solide (non supplémenté) 35°C ; 5% CO ₂ ; 20-24 H	<i>S.aureus</i> ATCC 29213 <i>E. coli</i> 35218 (AMC)
<i>Pediococcus</i> spp.	Dilution en milieu liquide	MHLAC + 2,5 à 5% sang de cheval lysé (v/v)	0,5 MF	20 -24h 35°C Atm.ordinaire	NA	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>E.coli</i> ATCC 25922 (GEN)

HACCEK* : *Haemophilus, Actinobacillus, Capnocytophaga, Cardiobacterium, Eikenella et Kingella*

NA : technique d'antibiogramme non applicable

GEN : Gentamicine

AMC : Amoxicilline+ Acide Clavulanique

MHLAC : Mueller-Hinton liquide ajusté en cations

Tableau 12 (suite) : Tests de sensibilité aux antibiotiques pour les bactéries à croissance difficile ou rarement incriminées

Microorganisme	Technique de CMI	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation	Technique d'antibiogramme	Contrôle de qualité
<i>Helicobacter pylori</i>	CMI en milieu solide (spot de 3 µl)	MHA + 5% sang de mouton vieilli (>2 semaines)	2,0 MF Suspension en eau physiologique stérile 0,09 % à partir d'une culture sur GSF de 72h	35°C±2 3 jours Atm.microaérobie (10% CO ₂ , 5% O ₂ , 85%)	NA	<i>H.pylori</i> ATCC 43504
<i>Aeromonas</i> spp. <i>P. shigelloides</i>	CMI en milieu liquide	MHLAC	0,5 MF	35°C 16—20h Air ambiant	MH solide (non supplémenté) /35°C ; air ambiant ; 16-18 H	<i>E.coli</i> ATCC 25922 <i>E.coli</i> ATCC 35218 (AMC)
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	CMI en milieu liquide	MHLAC + 2,5-5% sang de cheval lysé	0,5 MF	36°C à 37°C 48h Ou 42°C 24h Atm.microaérobie (10% CO ₂ , 5% O ₂ , 85% N ₂)	MH solide+5% sang de mouton 36-37°C 48 H ou 42°C 24 H ; 10% CO ₂ , 5% O ₂ , 85% N ₂ (microaérobie)	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33560 (36 à 37°C 48h ou 42°C 24h) Micro dilution <i>S.aureus</i> ATCC 25923 MH agar 35-37°C 16-18h Air ambiant
<i>Pasteurella</i> spp.	CMI en milieu liquide	MHLAC + 2,5-5% sang de cheval lysé	0,5 MF	35°C Air ambiant 18-24 h	MH solide+5% sang de mouton/35°C ; air ambiant ; 16-18 H	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619 <i>E. coli</i> ATCC 35218 (AMC) <i>S.aureus</i> ATCC 25923 (pour disque)
Anaérobies strictes	Dilution en milieu liquide (pour groupe <i>B. fragilis</i>) Dilution en milieu gélosé	Bouillon Brucella + hémine (5µg/ml) + VitK1 (1µg/ml) + sang de cheval lysé (5% v/v) Gélose Brucella + hémine (5µg/ml) + Vit K1 (1µg/ml) + sang de cheval lysé (5% v/v)	10 ⁶ UFC/spot 10 ⁵ UFC /spot	36°C 46 à 48 h En anaérobiose 36°C 42 à 48 h en anaérobiose	NA	<i>B. fragilis</i> ATCC 25285 <i>B. thetaiotaomicron</i> ATCC 29741 Les deux souches doivent être testées <i>C. difficile</i> ATCC 700057 <i>E. lentum</i> ATCC 43055 Tester deux parmi les 4 souches tous les 30 isolats

MH : Muller Hinton, MHLAC : Muller Hinton Liquide Ajusté en Cations, UFC: Unité formant colonie, NA: Non applicable, MF : MacFarland

Tableau 13 : Techniques de détermination de la CMI des antibiotiques pour les bactéries considérées comme dangereuses

Microorganisme	Technique recommandée	Milieu	Inoculum	Conditions d'incubation	Contrôle de qualité
<i>Bacillus anthracis</i>	CMI par dilution en milieu liquide	MHLAC	0,5 MF dans du MHLAC	35°C ± 2°C 16 à 20 h Air ambiant	<i>E.coli</i> ATCC 25922 <i>S.aureus</i> ATCC 29213
<i>Yersinia pestis</i>	CMI par dilution en milieu liquide	MHLAC	0,5 MF dans du MHLAC	35°C ± 2°C 24 à 48 h Air ambiant	<i>E.coli</i> ATCC 25922
<i>Brucella</i> spp.	CMI par dilution en milieu liquide	Bouillon Brucella Non supplémenté pH ajusté à 7,1±0,1	0,5 MF dans du MHLAC	35°C ± 2°C 48h Air ambiant	<i>E.coli</i> ATCC 25922 <i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619
<i>Burkholderia mallei</i>	CMI par dilution en milieu liquide	MHLAC	0,5 MF dans du MHLAC	35°C ± 2°C 16 à 20 h Air ambiant	<i>E.coli</i> ATCC 25922 <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	CMI par dilution en milieu liquide	MHLAC	0,5 MF dans du MHLAC	35°C ± 2°C 16 à 20 h Air ambiant	<i>E.coli</i> ATCC 25922 <i>E.coli</i> ATCC 35218 (AMC) <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853
<i>Francisella tularensis</i>	CMI par dilution en milieu liquide	MHLAC + 2% supplément de croissance défini	0,5 MF dans du MHLAC à partir d'une culture sur gélose au sang cuit	35°C ± 2°C 48h Air ambiant	<i>E.coli</i> ATCC 25922 <i>S.aureus</i> ATCC 29213 <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853

MHLAC : Mueller-Hinton liquide ajusté en cations

Précautions à prendre au niveau du laboratoire pour les agents bactériens dangereux :

- Les manipulations doivent se faire obligatoirement dans un laboratoire de niveau de sécurité 3.
- La manipulation obligatoire des prélèvements sous PSM (hotte à flux laminaire vertical).
- Le manipulateur doit être protégé (port de blouse, lunettes de protection, masque, double gants).
- Préparation du plateau de travail: pipettes Pasteur, anses de platine, conteneur autoclavable pour déchets PCT (piquant, coupant, tranchant), boîtes de milieux de culture préalablement séchées, boîte de Petri vide (servira au transport des frottis fixés sur lames et colorés au Gram ou au bleu de méthylène), lames, pinces, poires, coton imbibé d'alcool à 70°, stérilisateur d'anses.
- Le travail doit se faire dans le calme, les gestes doivent être lents et le manipulateur doit être concentré sur son travail et ne pas être dérangé par le téléphone.

2-1- Technique de dilution en gélose :

a- Milieu de culture :

- Milieu Mueller-Hinton en gélose
- Il est liquéfié par ébullition puis maintenu à la température de surfusion (45°C) jusqu'au moment de l'emploi.
- Il peut être supplémenté en sang frais ou autres en fonction des microorganismes testés (tableau 10).

b- Préparation des boîtes de dilutions d'antibiotique (tableau n°14) :

- Peser 51,20 mg de poudre titrée d'antibiotique. Diluer dans le volume de solvant approprié (voir annexe) pour obtenir une concentration stock de 5120 µg/ml (solution-mère).
- Procéder aux dilutions semi-logarithmiques de raison 2 (de demi en demi), dans le solvant approprié, jusqu'à la concentration finale de 1,25 µg/ml.
- Répartir 2 ml de chaque dilution d'antibiotique, dans la boîte correspondante en procédant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Ne pas changer de pipette.
- Compléter chaque boîte avec 18 ml de milieu Mueller-Hinton liquéfié et homogénéiser délicatement, sans faire de bulle, le contenu des boîtes par des mouvements circulaires. La dilution obtenue (1/10^{ème}) dans chaque boîte aboutit à une concentration finale allant de 512 µg/ml à 0,125 µg/ml. La gamme de dilution peut être étendue selon les valeurs souhaitées.
- Préparer une boîte témoin sans antibiotique en remplaçant le volume d'antibiotique par le même volume d'eau physiologique stérile.
- Après solidification, sécher les boîtes, **couvercle en place**, pendant 30 mn.

c- Préparation de l'inoculum bactérien :

- Préparer un inoculum standard à une turbidité de 0,5 MF, ce qui correspond à $10^8 - 2.10^8$ UFC/ml en moyenne. Utiliser l'eau physiologique à 0,9% pour la préparation de la suspension directe à partir d'une culture jeune de la bactérie à tester.
- Déposer sous forme de spots à la surface de la gélose, 10^4 UFC/ml par spots de 5 à 8 mm.
- Si on utilise un applicateur de 2µl par spot, diluer l'inoculum au 1/10^{ème} en eau physiologique.
- Si on utilise un applicateur de 0,1 à 0,2µl par spot, ne pas diluer l'inoculum de départ (0,5 MF).

d- Dépôt des spots bactériens :

- Déposer les spots dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.
- Marquer la boîte de dilution d'antibiotique pour localiser et identifier chaque spot.

- Appliquer chaque spot sur la gélose, en utilisant un appareil de Steers, une anse calibrée ou une pipette automatique à cône stérile.
- Commencer par la boîte témoin, puis déposer les spots sur les différentes boîtes en allant de la plus faible concentration à la concentration la plus élevée. Terminer en appliquant les spots sur une 2^{ème} boîte témoin.
- Etaler une goutte de chaque souche testée, sur une gélose non sélective et incuber une nuit (détection des cultures mixtes, obtention d'une culture jeune).

e- Incubation :

- Laisser les boîtes à température ambiante, couvercle vers le haut, jusqu'à absorption de l'humidité (séchage des spots, pas plus de 30 mn).
- Retourner les boîtes et incuber à $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 16-20 heures.
- Ne pas incuber en atmosphère à forte concentration de CO_2 si cela n'est pas recommandé (le CO_2 perturbe le pH du milieu).
- Incuber *Neisseria meningitidis* et *Streptococcus* spp. en atmosphère contenant 5% de CO_2 .

f- Lecture des CMI :

- Placer les boîtes sur une surface sombre, non réfléchive
- Noter la CMI (la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne visible).
- Ne pas prendre en considération 2 colonies ou un léger film
- Si on note plus de 2 colonies persistantes ou si l'on constate une réapparition de la culture au-delà de la CMI, vérifier la pureté de l'inoculum et refaire le test.
- 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.

Tableau 14 : Schéma pour la préparation des dilutions d'antibiotiques

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	Diluant (ml)	Concentration intermédiaire	Concentration finale dans la gélose (µg/ml)
Solution mère	5120			5120	512
1	5120	2	2	2560	256
2	5120	1	3	1280	128
3	5120	1	7	640	64
4	640	2	2	320	32
5	640	1	3	160	16
6	640	1	7	80	8
7	80	2	2	40	4
8	80	1	3	20	2
9	80	1	7	10	1
10	10	2	2	5	0,5
11	10	1	3	2,5	0,25
12	10	1	7	1,25	0,125

2-2- Technique de dilution en milieu liquide :**a- Milieu de culture :**

- C'est le Mueller-Hinton liquide, recommandé pour tester les microorganismes couramment isolés, à croissance rapide, aérobies ou aérobie-anaérobies facultatifs.
- Le milieu MH liquide est ajusté en cations (MHLAC)
- Le MHLAC est supplémenté avec 2.5 à 5% (v/v) de sang hémolysé de cheval (voir mode de préparation en annexe) pour la croissance des bactéries difficiles ou d'isolement peu courant.

b- Gamme des dilutions d'antibiotique :

- Dissoudre 10,24 mg de poudre titrée d'antibiotique dans le volume adéquat du solvant correspondant (voir annexe), pour obtenir une solution mère à 1024 µg/ml.
- Répartir dans des tubes stériles le milieu MHLAC supplémenté ou non, à raison de 0,25 ml par tube ou bien à raison de 25 µl par cupule en microplaque à fond rond.
- Réaliser à partir de la solution mère, les dilutions semi-logarithmiques de raison 2 ; on obtient des concentrations intermédiaires allant de 512 µg/ml à 0,063 µg/ml (tableau n°15).

c- Préparation de l'inoculum bactérien :

- Préparer à partir d'une culture pure de 48 heures, une suspension de la souche à étudier, dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile (ou de MHLAC), d'une densité équivalente à 0,5 MF (10^8 UFC/ml).
- Diluer la suspension d'opacité 0,5 MF au $1/10^{\text{ème}}$ pour distribuer un inoculum de 5.10^5 UFC/ml de germe dans chaque tube ou cupule.
- Vérifier par ailleurs, la pureté de chaque souche en effectuant l'isolement sur gélose non sélective.

d- Distribution de l'inoculum bactérien :

- Elle doit se faire dans les 15 mn suivant la préparation de l'inoculum.
- Inoculer les tubes d'antibiotiques (ou les cupules de la microplaque) avec 50 μ l de suspension bactérienne par tube (ou 5 μ l par cupule).
- Pour chaque série, réaliser un témoin sans antibiotique (tube ou cupule).

e- Distribution du milieu MHLAC :

- Répartir dans les tubes 0,70 ml de MHLAC (ou 70 μ l / cupule) ; la concentration d'antibiotique obtenue va ainsi de 128 μ g/ml à 0,016 μ g/ml.

f- Incubation :

- Recouvrir la plaque d'un couvercle en plastique (ou boucher les tubes) .
- Les conditions d'incubation seront appliquées en fonction des germes testés (tableaux n°10, 11, 12 et 13).

g- Lecture :

- La CMI de chaque antibiotique correspond au 1^{er} tube ou à la 1^{ère} cupule CLAIRE (pas de culture par rapport au témoin sans antibiotique).
- Comparer la CMI lue aux CMI critiques correspondantes à chaque antibiotique testé (tables de lecture).
- Classer les bactéries dans la catégorie R, I ou S selon le résultat.

Tableau 15 : Gamme des concentrations des antibiotiques (CMI par technique de dilution en milieu liquide)

N° tube ou cupule	Volume de la solution d'antibiotique à rajouter	Concentration intermédiaire (µg /ml)	Volume MH supplémenté en sang ou non	Inoculum	Concentration finale / tube ou cupule (vol final: 1ml/tube ou 100 µl /cupule)
1	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 1024µg/ml	512	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	128 µg/ml
2	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 512µg/ml	256	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	64 µg/ml
3	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 256µg/ml	128	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	32 µg/ml
4	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 128µg/ml	64	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	16 µg/ml
5	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 64µg/ml	32	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	8 µg/ml
6	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 32µg/ml	16	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	4 µg/ml
7	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 16µg/ml	8	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	2 µg/ml
8	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 8µg/ml	4	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	1 µg/ml
9	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 4µg/ml	2	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	0,5 µg/ml
10	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 2µg/ml	1	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	0,25 µg/ml
11	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 1µg/ml	0,5	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	0,125 µg/ml
12	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 0,5µg/ml	0,25	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	0,063 µg/ml
13	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 0,25µg/ml	0,125	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	0,032 µg/ml
14	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 0,125µg/ml	0,063	0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	0,016 µg/ml
Temoin	0,25ml (ou 25 µl /cupule) d'eau physiologique		0,70 ml (ou 70µl)	50 µl /tube (ou 5 µl /cupule)	

2-3- Technique du E-Test :

a-Milieu :

- Il doit être coulé en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4 mm.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

b- Préparation de l'inoculum :

- A 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. Dans le cas de *Streptococcus* pp. et d'*Haemophilus* spp. utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Dans le cas de *Neisseria gonorrhoeae*, décharger l'anse dans 1 à 2 ml de tampon phosphate stérile à pH 7,2.
- 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. Ajuster le plus précisément possible. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

c- Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement et en le tournant contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- Ensemencer dans les mêmes conditions la (ou les) souches de référence (tableaux n°9, 10, 11 et 12).

d- Dépôt de la bandelette E-test :

- Prélever la bandelette à l'aide de pinces bactériologiques préalablement flambées au bec Bunsen ; le contact avec les pinces doit se faire au niveau de l'extrémité marquée E ou non graduée ; à noter que l'utilisation d'un applicateur est recommandée.
- Déposer la bandelette délicatement sur la surface gélosée, en commençant par l'extrémité correspondant aux concentrations les plus faibles de l'antibiotique testé puis en progressant jusqu'aux concentrations les plus élevées. Eviter la formation de bulles d'air entre la gélose et la bandelette, une fois appliquée la bandelette ne peut être déplacée.

- A noter que l'on ne peut déposer qu'une ou deux bandelettes E-test au maximum par boîte de 90 mm de \varnothing (risque de chevauchement des ellipses avec plus d'une bandelette).
- Laisser la boîte couvercle en haut pendant 15 mn au plus.
- Incuber la boîte dans les conditions requises selon la nature de la bactérie testée (voir tableaux n° 10, 11, 12 et 13).

e- Lecture et interprétation :

- La CMI de l'antibiotique testé est lue à l'œil nu, boîte ouverte et bien éclairée.
- Elle correspond à la graduation, située à la jonction entre l'ellipse (dessinée par l'inhibition de la culture bactérienne) et la bandelette E-test.
- Contrôler la qualité du test par la CMI de la souche de référence. Se référer au tableau de lecture fourni au niveau du prospectus E-Test.
- Lire ensuite la CMI de la souche bactérienne testée .
- Se référer aux recommandations du fournisseur pour l'interprétation de cas ambigus (double zone).
- 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.

Références bibliographiques

- 1- CLSI. *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*. 3rd ed. CLSI guideline M45. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016
- 2- CLSI. *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 35th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2025
- 3- CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests For Bacteria That Grow Aerobically*; Approved Standards. Tenth Edition. CLSI. January 2015, M07-A10.
- 4- *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*; Approved Standards. Twelvth Edition. CLSI. M02-A12. January 2015.
- 5- Benamrouche. N, Lazri. M, Mahrane. S, Ouraghi. R, Touati. D, Rahal. K. Diagnostic biologique de la coqueluche. Edition 2013. ANDS. 50 p.
- 6- Ouar-Korichi. M. N, Senouci. H, Rahal. K. Diagnostic bactériologique et sérologique de la Brucellose humaine. 2^{ème} Edition 2005. ANDS. 58 p.

Tests complémentaires pour entérobactéries, *Pseudomonas* spp. et *Acinetobacter* spp.

I- Recherche des β -lactamases chez les entérobactéries

1. Recherche de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries.
 - 1.1 Quand rechercher une BLSE ?
 - 1.2 Tests phénotypiques de détection
 - Test de synergie
 - Test du double disque
 - Détermination de la CMI des C3G seules et associées à l'acide clavulanique
2. Recherche des céphalosporinases hyper produites AmpC
 - 2.1 Test à la cloxacilline
 - 2.2 Test d'inhibition par l'acide boronique
3. Recherche de carbapénémases
 - 3.1 Screening des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC)
 - 3.2. Tests phénotypiques de détection
 - Méthode de l'inactivation des carbapénèmes modifiée (mCIM)
 - EDTA carbapenem inactivation method (eCIM)
 - Test à l'EDTA
 - Test à Acide boronique
 - Test à la témocilline
 - 3.3. Tests rapides
 - Carba NP test
 - Test Immuno chromatographique

II-Recherche de β - lactamases chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*

1. Recherche de BLSE et de céphalosporinase
2. Recherche des carbapénémases chez *Pseudomonas* et *Acinetobacter*
 - Test de Hodge modifié
 - Test EDTA
 - Test Carba NP
 - Test d'inactivation des carbapénèmes

III- Détermination de la résistance à la colistine pour les entérobactéries, *Acinetobacter* et *Pseudomonas*.

1. Détermination de la CMI de la colistine en milieu liquide par microdilution pour les entérobactéries, *Acinetobacter* et *Pseudomonas aeruginosa* (selon les recommandations du CLSI-EUCAST joint Polymyxin Breakpoints Working Group)
2. Tests pour la détermination de la résistance à la colistine pour les entérobactéries et *P.aeruginosa* (selon les recommandations du CLSI M100, 30th ed, 2020)
 - Colistin broth disk elution (CBDE) :
 - Colistin Agar Test (CAT) :

IV- Aztreonam Plus Ceftazidime-Avibactam Broth Disk Elution Method

V- Test complémentaire phénotypique pour la détection de la résistance de haut niveau aux aminoglycosides : Test rapide aminoglycoside NP (Nordmann/Poirel)

I- Recherche des β -lactamases chez les *Enterobacterales*

Les *Enterobacterales* ont développé au fil du temps des mécanismes qui leur permettent de résister aux β -lactamines à large spectre (céphalosporines de 3^{ème} génération, carbapénèmes) ; il s'agit d'enzymes de type β -lactamases représentées essentiellement par les céphalosporinases de type Amp C, les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et les carbapénèmases. Chacun de ces types d'enzymes confère un profil de résistance aux β -lactamines décelable à l'antibiogramme (tableau 16).

Des tests complémentaires sont parfois nécessaires pour confirmer la présence de ces β -lactamases ; ils seront décrits dans ce qui suit.

Tableau 16 : Phénotypes de résistance des entérobactéries productrices de céphalosporinases de haut niveau, de BLSE et de carbapénémases

Antibiotiques	BLSE	Céphalosporinases de haut niveau	BLSE ou céphalosporinase + imperméabilité	Carba-pénémase (MBL)	Carba-pénémase (KPC)	Carba-pénémase (OXA-48)
Aminopénicillines	R	R	R	R	R	R
Amoxicilline+acide clavulanique	S/I/R	R	S/I/R	R	I/R	R
Carboxypénicillines	R	I/R	R	R	R	R
Carboxypénicillines+ acide clavulanique	S/I/R	I/R	S/I/R	R	I/R	R
Urédopénicillines	R	I/R	R	I/R	R	R
Piperacilline+Tazobactam	S	I/R	S/I/R	I/R	I/R	R
Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	R	R	R	R	R	I
Céphalosporines de 2 ^{ème} génération	R	R	R	R	R	S
Céfoxitine	S	S/I/R	S/I/R	I/R	I/R	S
Céftazidime	S/I/R	I/R	S/I/R	I/R	I/R	S
Céfotaxime/Céftriaxone	S/I/R	I/R	S/I/R	I/R	I/R	S/I
Aztréonam	S/I/R	I/R	S/I/R	S	I/R	S
Ertapénème	S	S	I/R	I/R	I/R	S/I/R
Imipénème	S	S	S/I/R	S/I/R	S/I/R	S/I

Abréviations : BLSE : β -lactamase à spectre étendu, MBL : Métallo β - lactamase , KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase- OXA-48 : Oxacillinase- 48, R : résistant, S : Sensible, I :intermédiaire.

1. Recherche de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries.

Les BLSE entraînent une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (céfotaxime, céftriaxone, céftazidime) et des monobactams (aztréonam), mais n'ont aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine, moxalactam) et des carbapénèmes.

Il existe trois grandes classes de BLSE chez les entérobactéries, les SHV apparues en 1983, les TEM en 1985 et les CTX-M en 1990. Elles sont dites majeures et appartiennent aux sérines β -lactamases de la classe A d'Ambler. Il existe d'autres BLSE dites mineures car elles sont plus rares (PER, VEB et BEL).

1.1 Quand rechercher une BLSE ?

La recherche de BLSE se fera devant les valeurs suivantes de diamètres d'inhibition et / ou de CMI :

- Pour *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* et *E.coli*

Antibiotique	Diamètre (mm)	CMI (μ g/ml)
Céfotaxime 30 μ g	CTX \leq 27	\geq 2
Céftazidime 30 μ g	CAZ \leq 22	\geq 2
Céftriaxone 30 μ g	CRO \leq 25	\geq 2
Aztréonam 30 μ g	ATM \leq 27	\geq 2
Céfpodoxime 10 μ g	CPO \leq 17	\geq 8

- Pour *Proteus mirabilis*

Antibiotique	Diamètre (mm)	CMI (μ g/ml)
Céfotaxime 30 μ g	CTX \leq 27	\geq 2
Céftazidime 30 μ g	CAZ \leq 22	\geq 2
Céfpodoxime 10 μ g	CPO \leq 22	\geq 2

1.2 Techniques phénotypiques de détection

- Test de synergie

Principe :

Les BLSE dérivées des enzymes de classe A (Ambler) sont inactivées par les inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam)

Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline +acide clavulanique (AMC 20/10 µg) à 30 mm centre à centre d'un disque de CTX (30 µg) ou CRO (30 µg) ou CPO (10 µg) ou CAZ (30 µg) ou ATM (30 µg). Incuber 16- 18H à 35°C.

Lecture

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie entre les disques : AMC et CTX, AMC et CAZ, AMC et ATM, AMC et CRO, AMC et CPO.

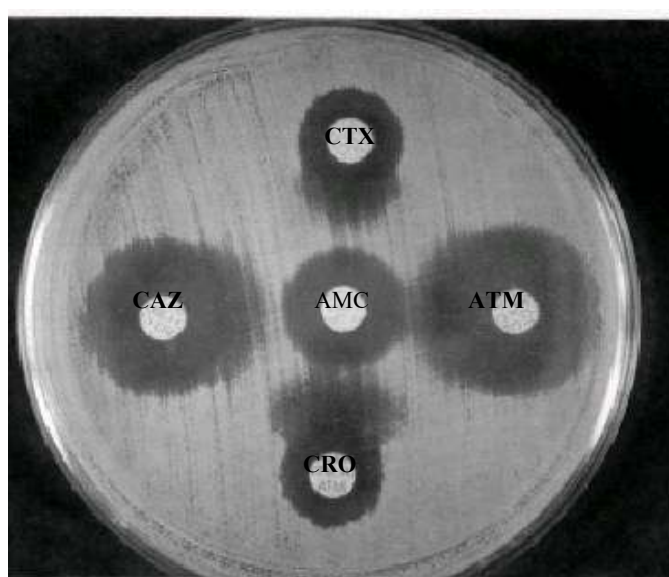


Figure 1: Souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE (Test de synergie)

source: Laboratoire de bactériologie médicale IPA

Recommandations :

- Chez *P. mirabilis*, *P. penneri*, *P. vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, les BLSE s'expriment à bas niveau; dans ce cas, le test de synergie est optimisé en disposant les disques à une distance de 40 à 45 mm au lieu de 30 mm.
- Risque d'erreur d'interprétation chez *Klebsiella oxytoca*, *P.vulgaris*, *P.penneri*, *Citrobacter koseri*, le test de synergie est positif avec aztréonam et / ou céftriaxone, mais reste négatif avec céftazidime dont l'activité est conservée, signe d'hyperproduction de β -lactamase naturelle chromosomique ou aztréonamase.
- La détection des BLSE chez les souches productrices de CHN est facilitée par la recherche d'une synergie entre AMC et céfépime (30µg) ou céfpirome (30µg), car ce sont des molécules stables à l'action de la CHN. L'inactivation de la céphalosporinase est réalisée en incluant de la cloxacilline (500mg/l - 1000mg/l) dans la gélose pour les entérobactéries du groupe 3 (Voir test à la cloxacilline).

- **Test du double disque (fig. 2)**

Ce test devra être fait systématiquement devant l'absence de synergie avec diminution des diamètres des C3G.

Technique

Ce test se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme.

- Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX ou CRO) à une distance de 30 mm (centre à centre).
- Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à la température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.
- Après 1H d'incubation, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX ou CRO (ou CAZ).
- Incuber la boîte 16-18 H à 35°C.

Remarque : Il est possible d'utiliser des disques combinés (CTX + acide clavulanique et CAZ + acide clavulanique).

Lecture et interprétation :

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après diffusion du disque AMC est ≥ 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition autour du disque de C3G.

Exemple : diamètre de CTX = 16 mm ; diamètre de CTX+AMC = 21 mm donc souche BLSE(+). L'interprétation (R, I ou S) se fait selon les diamètres mesurés et non sur la présence de BLSE (fig. 2).

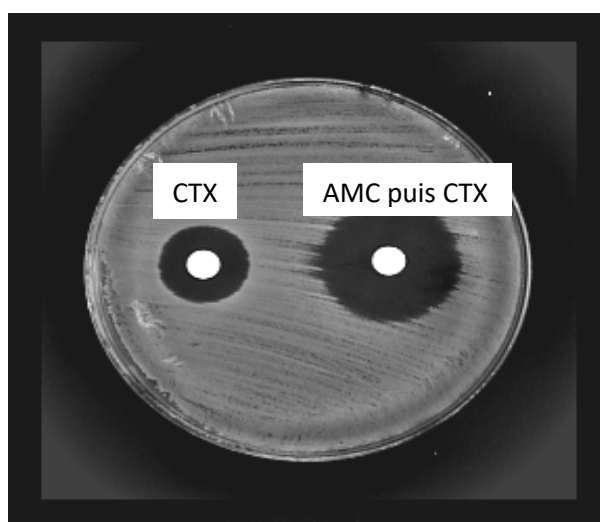


Figure 2 : *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE (Test du double disque positif).

Source: Laboratoire de bactériologie médicale IPA

Contrôle de qualité

Les mêmes techniques seront réalisées en parallèle pour les souches :

- *E. coli* ATCC 25922 non productrice de BLSE.
- *K. pneumoniae* ATCC 700603 productrice de BLSE.

- **Détermination de la CMI des C3G seules et associées à l'acide clavulanique**

Le CLSI préconise de réaliser des CMI en liquide MHLAC pour le céfotaxime (0.25-64 µg/ml) et la céftazidime (0.25-128 µg/ml) seuls et associés à l'acide clavulanique aux concentrations suivantes :

- Céfotaxime + acide clavulanique (0,25 / 4 – 64 / 4 µg/ml)
- Céftazidime + acide clavulanique (0,25 / 4 -128 / 4 µg/ml)

Technique

CMI liquide (Chapitre techniques), incubation 16 -20 H à 35 °C.

Lecture

Les valeurs des CMI des associations CTX + ac. clavulanique et CAZ + ac. clavulanique doivent être inférieures de 3 dilutions par rapport aux valeurs des CMI CTX et CAZ seules.

Remarque : il est possible d'utiliser des bandelettes E test permettant de déterminer les CMI des C3G avec ou sans inhibiteurs.



Figure 3 : CMI E-test combiné CTX et CTX+Ac.clavulanique.

Source: Laboratoire de bactériologie médicale IPA

Contrôle de qualité :

Les mêmes techniques seront réalisées en parallèle pour les souches :

- *E. coli* ATCC 25922 non productrice de BLSE.
- *K. pneumoniae* ATCC 700603 productrice de BLSE.

2. Recherche des céphalosporinases hyper produites AmpC

Ce type de mécanismes de résistance a été identifié dès les années 1990, il est suspecté lorsqu'il existe une résistance acquise aux C3G avec un test de synergie négatif.

Les CHN transférables (AmpC) inactivent les aminopénicillines, l'amoxicilline +acide clavulanique, les uréidopénicillines, la ticarcilline, les C1G, C2G, C3G et même les céphamycines, latamoxef et l'aztréonam mais elles n'ont aucune activité vis-à-vis du céfépime, du céfpirome et des carbapénèmes. Elles ne sont inhibées ni par l'acide clavulanique, ni par l'EDTA mais par la cloxacilline et l'acide boronique.

Exemples : CMY/LAT, MIR-1, DHA-1

2.1. Test à la cloxacilline**Principe**

La cloxacilline, ajoutée au milieu pour l'antibiogramme (MH), inhibe in vitro les CHN et révélera les autres mécanismes de résistance (pénicillinases et BLSE).

Technique

L'antibiogramme pour les β -lactamines sera réalisé simultanément sur MH et sur MH additionné de cloxacilline (selon le tableau 17).

Un contrôle de qualité sera réalisé avec la souche *E. coli* ATCC 25922

Tableau 17: Préparation des boîtes de cloxacilline (ou oxacilline)

	Entérobactéries groupe 1 et 2	Entérobactéries groupe 3
Concentration en cloxacilline	0,5 mg /ml (500 mg/l)	1 mg /ml (1000 mg/l)
Préparation de la solution de la cloxacilline	50 mg de cloxacilline+ 10 ml d'eau distillée	100 mg de cloxacilline +10 ml d'eau distillée
Pour une boîte ronde (90mm)	2 ml de solution de cloxacilline +18 ml de MH	2 ml de solution de cloxacilline + 18 ml de MH

Abréviation : MH : Mueller Hinton, mg : milligramme, l : Litre

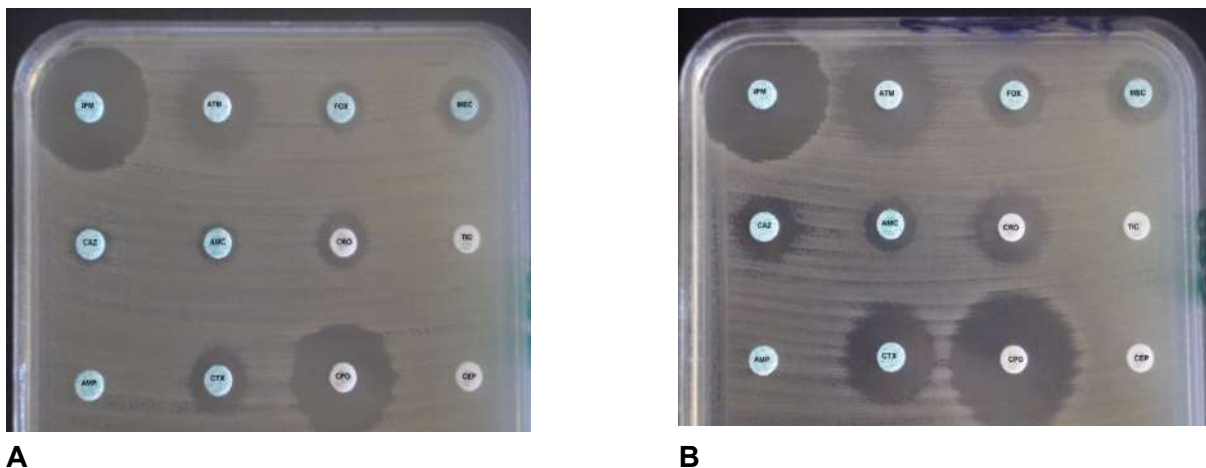
Remarque :

- Pour les entérobactéries du groupe 3, en cas d'absence de culture sur milieu à la cloxacilline, réaliser une CMI de la cloxacilline pour la souche à tester. La concentration pour le test à la cloxacilline sera inférieure de deux dilutions par rapport à la CMI retrouvée.

- Chez *Enterobacter* spp., un disque de céfépime peut être testé à l'antibiogramme (presque toujours actif sur les CHN).

Lecture

Le test à la cloxacilline est interprété en comparant l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de cloxacilline avec celui réalisé sur MH sans cloxacilline.



A : Antibiogramme sur MH

B : Antibiogramme sur MH + 0,5mg/ml de cloxacilline

Figure 4: Test à la cloxacilline sur une souche de *Klebsiella pneumoniae* : BLSE(-) et CHN(+), source: Laboratoire de bactériologie médicale IPA

Noter la différence de diamètre d'inhibition autour des céphalosporines de 3^{ème} génération entre les deux tests. Absence de synergie entre l'AMC et les C3G.

Interprétation

L'inhibition de la CHN entraîne : l'apparition des phénotypes sauvages de l'entérobactérie ou bien l'apparition d'autres mécanismes de résistance acquise tels que :

- production de BLSE
- production de pénicillinase
- imperméabilité

2.2. Test d'inhibition par l'acide boronique

Préparation des disques contenant une solution d'acide boronique

- Prendre 120 mg d'acide phénylboronique (benzen boronic acid), le dissoudre dans 3 ml de diméthyl sulfoxyde, ajouter 3 ml d'eau distillée stérile.
- Déposer 20 µl (400 µg) de cette solution sur des disques non imprégnés et des disques contenant du céfotétan (30 µg).
- Les disques sont séchés pendant 30 mn à température ambiante.

<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

- Ces disques peuvent être utilisés immédiatement ou stockés à +4 ou -70 °C (dans un étui sec).
 - Ensemencer une boîte de MH avec un inoculum de 0,5 Mc Farland, déposer un disque de céfotétan (30 µg) et un disque de céfotétan (30 µg) + 400 µg d'acide boronique, faire de même pour la ceftazidime (30 µg).
- Incuber la boîte 18 H à 35 °C.

Lecture

Toute augmentation du diamètre d'inhibition de 5 mm, en plus, autour du disque de céfotétan et céftazidime associés à l'acide boronique par rapport au disque de céfotétan et céftazidime seuls révèle la présence d'AmpC.

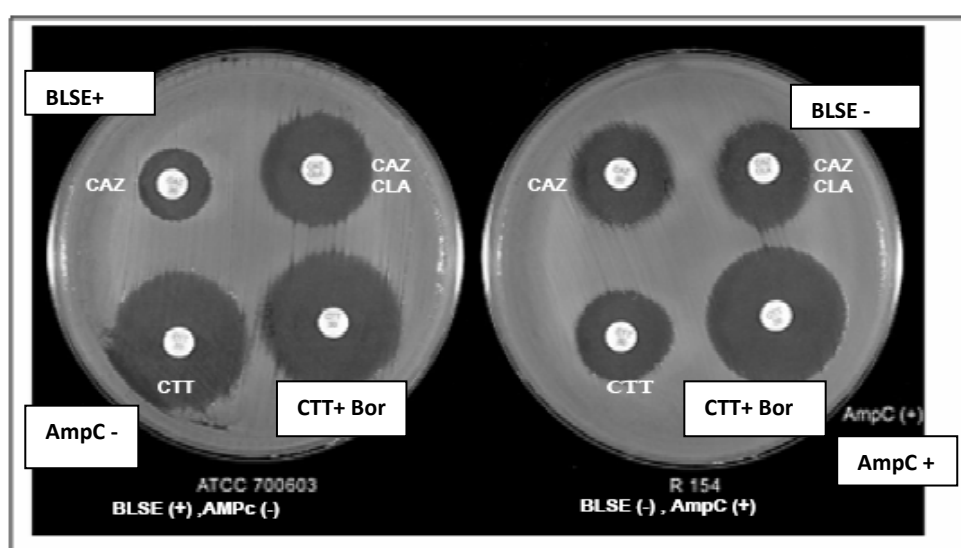
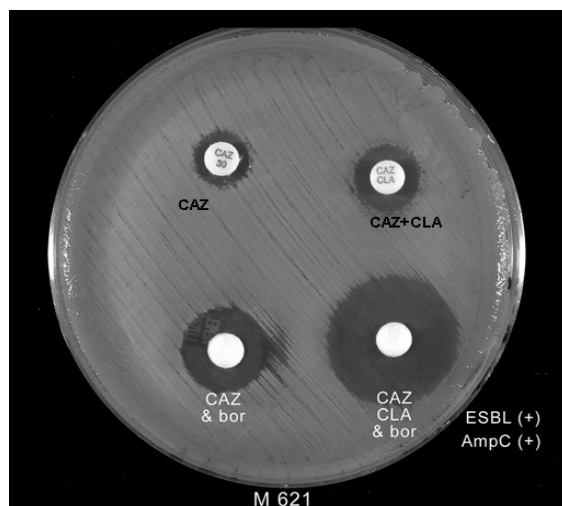


Figure 5: Comparaison entre le test de confirmation pour les BLSE et le test à l'acide boronique pour la détection des AmpC. Source : Manchanda et al. JAC 2003

Recherche de β -lactamase avec deux *K.pneumoniae* de référence ATCC 700603 produisant une BLSE sans AmpC et R154 qui produit une Amp C sans BLSE.

A gauche : *K. pneumoniae* ATCC 700603 BLSE (+) AmpC(-). En haut : l'acide clavulanique restaure l'activité de la ceftazidime ; en bas : il n'y a pas de différence significative entre les diamètres d'inhibition autour de céfotétan seul et céfotétan + acide boronique.

A droite : *K. pneumoniae* ATCC R154 BLSE (-) AmpC(+). En haut : L'acide clavulanique ne restaure pas l'activité de la ceftazidime ; en bas : l'acide boronique restaure l'activité du céfotétan avec présence d'une image de synergie entre les deux zones d'inhibition.



Les associations céftazidime + acide clavulanique et céftazidime +acide boronique donnent une faible restauration de l'activité de céftazidime.

L'association céftazidime +acide clavulanique +acide boronique entraîne la restauration de l'activité de céftazidime (> 5 mm) avec parfois l'apparition d'une image de synergie.

Figure 6: Recherche des β -lactamases (BLSE et Amp C)

Abréviations : CAZ : céftazidime- CLA : acide clavulanique, bor : acide boronique.

Source : Manchanda et al. JAC 2003

En utilisant céftazidime et ceftazidime + acide clavulanique (en haut) et les mêmes deux disques après ajout de 20 μ l (400 μ g) d'acide boronique (en bas). On conclut que *K. pneumoniae* synthétise une BLSE et une Amp C .

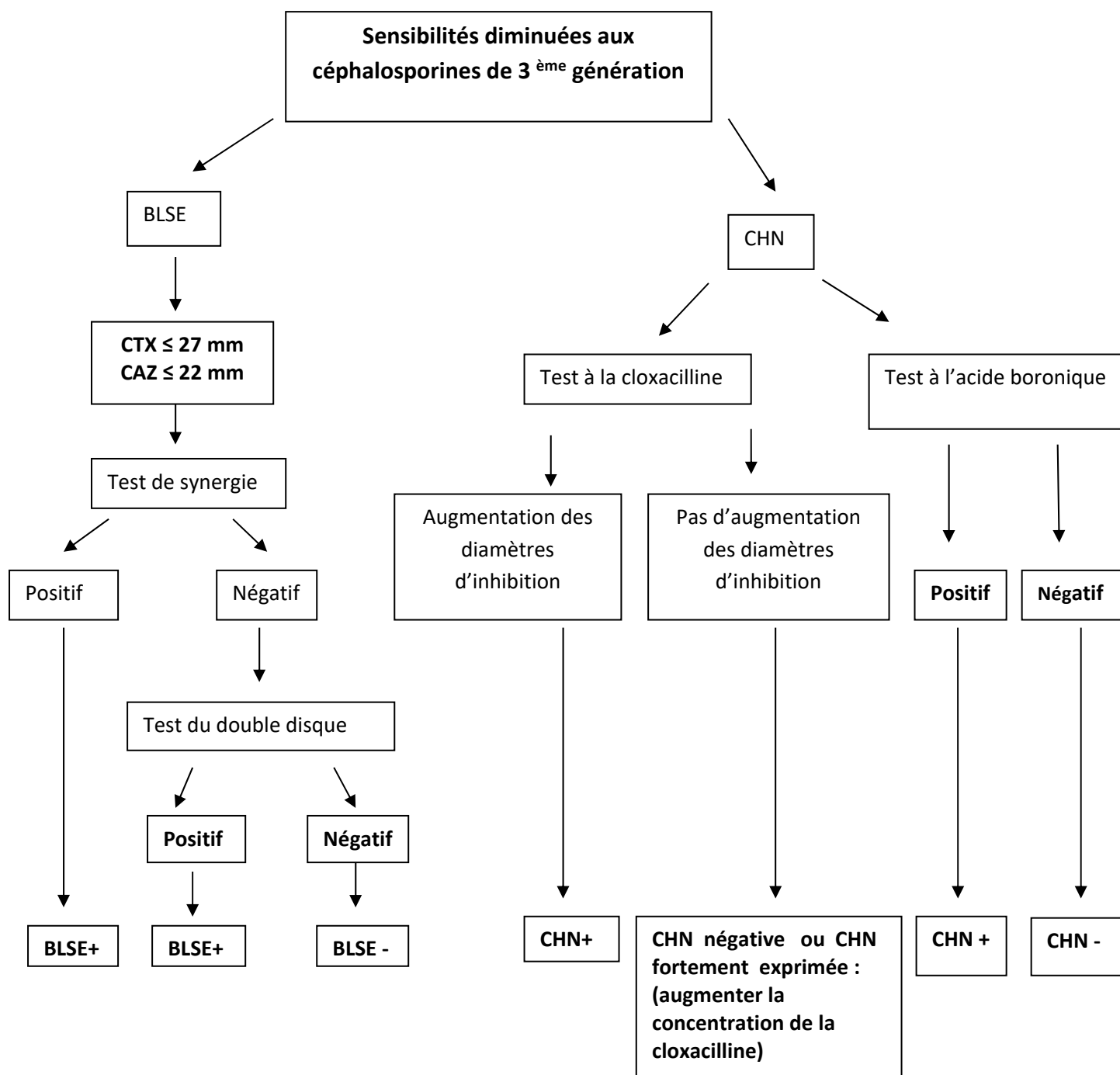


Figure 7 : Algorithme proposé pour la détection de BLSE et CHN chez les entérobactéries

3- Recherche de carbapénèmases

Les carbapénèmases plasmidiques sont des β -lactamases affectant l'activité de la plupart des β -lactamines y compris les carbapénèmes. Elles constituent un groupe hétérogène d'enzymes pouvant appartenir classiquement aux trois classes d'Ambler A (KPC), B (métaallo enzymes des types NDM, VIM, IMP) et D (OXA-48 et ses variants). Ces différentes enzymes confèrent des phénotypes de résistance différents vis-à-vis des β -lactamines ainsi que des niveaux de résistance variables aux diverses carbapénèmes (tableau16).

Dans ce chapitre, nous décrivons les méthodes phénotypiques indiquées pour la détection et la confirmation des différentes carbapénèmases des entérobactéries. Cependant, Nous rappelons que la confirmation moléculaire des différents types et variants reste indispensable.

3.1 Screening des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC)

Signes d'appel

- diminution de la sensibilité aux carbapénèmes. : toute souche non sensible (interprétée intermédiaire ou résistante selon les breakpoints en vigueur) à une ou plusieurs carbapénèmes devrait être considérée potentiellement productrice de carbapénémase. (tableau 18)
- présence de colonies (ou de doubles zones) à l'intérieur des diamètres d'inhibition conférés par les carbapénèmes

Tableau 18 : Rappel des différents seuils de sensibilité aux carbapénèmes

Carbapénème	Break points	CLSI		EUCAST	
		Diamètre (mm)	CMI (mg/l)	Diamètre (mm)	CMI (mg/l)
Ertapénème	Break points S	≥ 22	$\leq 0,5$	≥ 25	$\leq 0,5$
	Screening des cut off	/	≥ 2	< 25	$> 0,125$
Méropénème	Break points S	≥ 23	≤ 1	≥ 22	≤ 2
	Screening des cut off	/	≥ 2	< 25	$> 0,125$

Remarque :

- L'ertapénème est un marqueur très sensible mais peu spécifique pour la détection des carbapénèmases ; en effet, une diminution de la sensibilité à ce dernier peut également être observée en présence d'autres mécanismes (impermeabilité et/ou efflux + BLSE ou de céphalosporinase de type AmpC)
- Le méropénème semble offrir un meilleur compromis sensibilité-spécificité pour la détection des carbapénèmases.

- Le disque d'imipénème ne devrait pas être utilisé seul pour le screening (marqueur peu sensible et peu spécifique)
- une diminution de la sensibilité à l'ertapénème peut également être observée en présence d'autres mécanismes (imperméabilité et/ou efflux + BLSE ou de céphalosporinase de type AmpC). Ceci peut être évité en utilisant le méropénème dans le screening.
- Le disque d'imipénème n'est pas utilisé pour le screening des EPC.

3.2. Tests phénotypiques de détection

- **Modified carbapenem inactivation method (mCIM) ou méthode de l'inactivation des carbapénèmes modifiée**

Principe

Détection de la présence ou de l'absence de carbapénémases (classes A, B et D), par la mise en évidence de la perte de l'activité de la carbapénème au contact de l'enzyme produite par la souche à tester.

Mode opératoire

- a) Réaliser une suspension dense de la souche à tester (une ôse pleine de 1 µl dans 2 ml de bouillon Trypticase-Soja (TSB) ou à défaut de l'eau saline, vortexer pendant 10 à 15 secondes.
- b) Immerger un disque de méropénème 10 µg dans cette dernière suspension, puis incuber le tube à 35°C pendant une durée de 4h ± 15mn.
- c) Reprendre le même disque de méropénème à l'aide d'une ôse stérile en prenant le soin d'éliminer l'excès de suspension sur la paroi interne du tube, et le replacer à la surface d'une gélose Mueller-Hinton préalablement ensemencée à l'aide d'une suspension de la souche indicatrice sensible *E.coli* ATCC 25922 dont la densité a été ajustée à 0.5 Mc Farland et laissée sécher pendant 4 à 10 mn.
- d) Incuber la boîte à 35°C pendant 18 à 24 heures.

Il est préférable pour la validation du test d'inclure sur la boîte 2 autres disques de méropénème ayant été immergés dans deux suspensions correspondants aux 2 souches témoins *K.pneumoniae* ATCC BAA-1706 (témoin négatif) et *K.pneumoniae* ATCC BAA-1705 (témoin positif) selon la même procédure sus décrite..

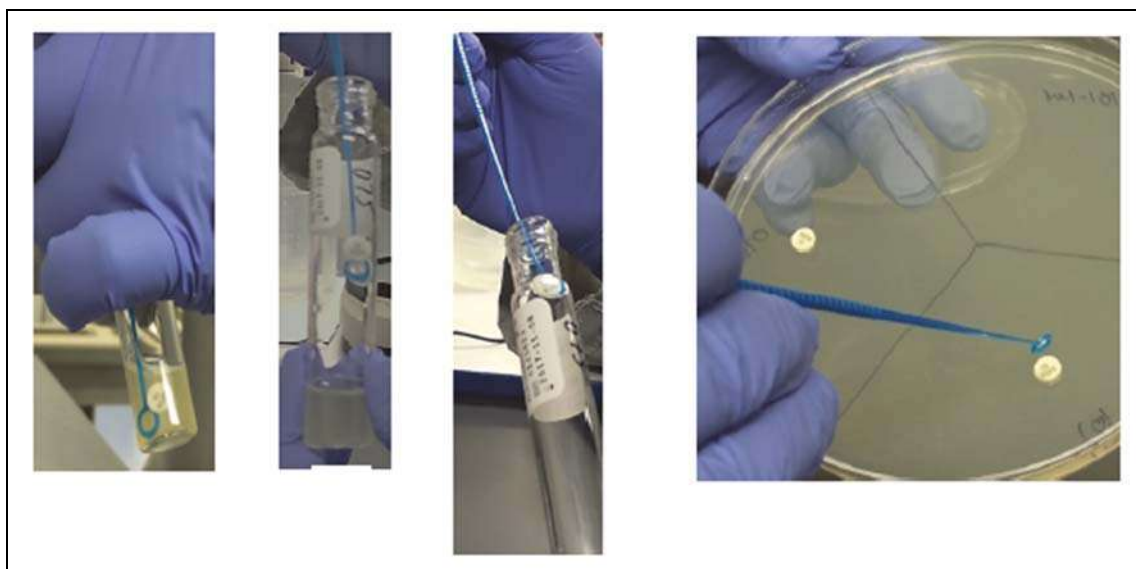


Figure 8 : Etapes de réalisation du test mCIM

Source CLSI M100-Ed33

Lecture et interprétation

- Mesurer avec précision le diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour du méropénème.

Tableau 19 : Interprétation du test mCIM

Test positif (présence de carbapénémase)	≤ 15 mm
	[16-18] mm avec présence de colonies à l'intérieur du diamètre d'inhibition
Test négatif (absence de carbapénémase)	≥ 19 mm avec une zone nette (absence de colonies à l'intérieur du diamètre d'inhibition)
Test indéterminé (la présence de la carbapénémase ne peut pas être confirmée)	[16-18] mm avec absence de colonies à l'intérieur du diamètre d'inhibition
	≥ 19 mm avec présence de colonies à l'intérieur du diamètre d'inhibition)

Remarque

- Il faut toujours ignorer le halo de colonies formé autour du disque et qui correspond à la « contamination » de ce dernier par la souche à tester lors de sa préalable immersion.

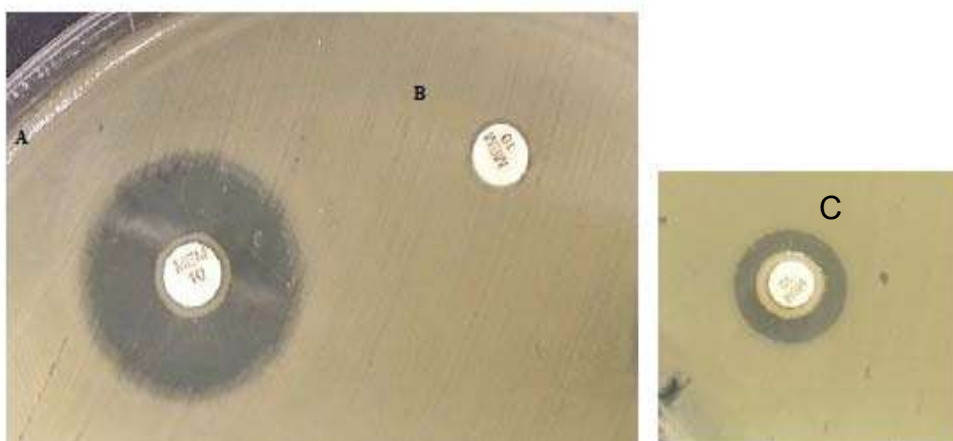


Figure 9 : Test mCIM

A : test négatif; B et C : tests positifs, source: CLSI M100-Ed33



Figure 10 : Test par inactivation des carbapénèmes CIM

1 : Test CIM positif 2 : Test CIM négatif,

Source : Laboratoire de bactériologie médicale IPA

- **EDTA carbapenem inactivation method (eCIM)**

Principe

Le test eCIM est une variante du mCIM, il est destiné à distinguer les carbapénémases de type MBL (inhibées par l'EDTA) des sérines enzymes (non inhibées par l'EDTA), il ne se pratique que lorsque le premier test est positif.

Mode opératoire

1. en parallèle du test mCIM (décrit plus haut), inclure pour chaque isolat un second tube de TSB auquel seront rajoutés 50 µl d'EDTA 0.5 M
2. reprendre les étapes du mCIM (de a à d)

3. les deux disques de MEM du mCIM et du eCIM doivent être placés sur une même boîte inoculée avec *E.coli* ATCC 25922.
4. le test est considéré positif (présence de MBL), si après incubation il existe une différence de diamètre $\geq 5\text{mm}$ autour du MEM (eCIM) par rapport à celui du mCIM (**ignorer la présence de colonies à l'intérieur des diamètres d'inhibition**).

Tableau 20 : Interprétation du test eCIM

mCIM	eCIM	Classe de carbapénémase
Positif	Positif	Métallo-enzyme (classe B)
Positif	Négatif	Sérine enzyme (classe A ou D)

**Figure 11** : Tests mCIM et eCIM combinés

Source CLSI M100-Ed33

• Test à l'EDTA

Principe

Mise en évidence des carbapénémases de classe B (métallo enzymes VIM, NDM et IMP) par la restauration de l'activité de la carbapénème en présence d'EDTA (chélateur de Zinc).

Mode opératoire

- Sur une gélose MH parfaitement sèche, ensemençer par ecouvillonnage la souche à tester (inoculum 0,5 Mc Farland).
- Déposer sur la gélose les disques imipénème (10 μg) et imipénème + EDTA (à défaut déposer 10 μl d'une solution d'EDTA 0,1 M sur un disque d'imipénème) ou la bandelette E-test imipénème/imipénème + EDTA.

<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

- Incuber pendant 18-24 heures à 35°C.

Lecture et interprétation

Le test est considéré positif si:

- ❖ une différence $\geq 5\text{mm}$ entre les deux zones d'inhibition autour des disques imipénème + EDTA et imipénème seul est observée.
- ❖ une réduction de la concentration minimale inhibitrice de l'imipénème en présence d'EDTA d'au moins 3 gradients ou lorsqu'un ratio CMI imipénème seul/ CMI imipénème + EDTA supérieur à 8 est observé.



Figure 12 : Test à l'EDTA positif, techniques du disque combiné et du E-test
Source: Laboratoire de bactériologie médicale IPA

Remarque : vérifier l'absence d'effet inhibiteur de la solution d'EDTA seule dans le cas où cette dernière est utilisée.

Test à l'acide boronique

Principe :

Mise en évidence des carbapénémases de classe A d'Ambler (KPC) par la restauration de l'activité de la carbapénème en présence d'un inhibiteur l'acide boronique ou phényl boronique (PBA).

Mode opératoire :

Sur une gélose MH parfaitement sèche, ensemercer par ecouvillonnage la souche à tester (inoculum 0,5 Mc Farland).

Déposer sur la gélose les disques imipénème (10 µg) et imipénème + PBA ou la bandelette E-test ertapénème/ ertapénème + PBA ou méropénème/ méropénème + PBA

Incuber pendant 18-24 heures à 35°C.

Lecture et interprétation :

Le test est considéré positif si:

<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

- ❖ une différence ≥ 5 mm entre les deux zones d'inhibition autour des disques imipénème + PBA et imipénème est observée.
- ❖ une réduction de la concentration minimale inhibitrice de l'ertapénème ou du méropénème en présence d'acide phényl boronique d'au moins 3 gradients ou lorsque un ratio CMI imipénème seul/ CMI imipénème + PBA supérieur à 8 est observé.

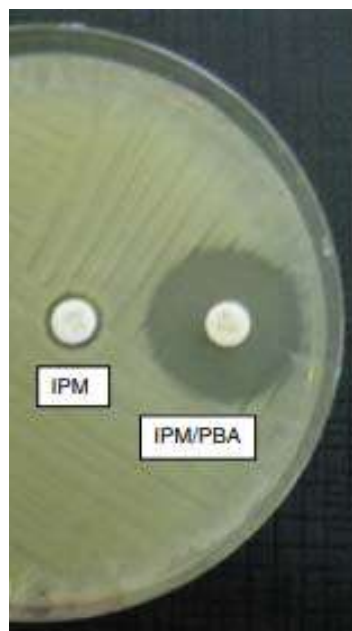


Figure 13 : Test à l'acide phényl boronique positif :
Technique du disque combiné, source : Mosca et al. Springerplus 2013.

Remarques

Des résultats faussement positifs peuvent être observés en présence de céphalosporinase hyperproduite et certains types de BLSE (CTX-M).

• Test à la témocilline

Principe :

Détection des carbapénémases du type OXA-48 qui dégradent à haut niveau la témocilline (des CMI élevées ou des diamètres particulièrement réduits).

Mode opératoire :

Sur une gélose MH parfaitement sèche, ensemercer par ecouvillonnage la souche à tester (inoculum 0,5 Mc Farland).

Déposer sur la gélose un disque de témocilline (10 µg).

Incuber pendant 18-24 heures à 35°C.

Lecture et interprétation :

Diamètre d'inhibition < 12 mm \Rightarrow souche potentiellement productrice d'OXA-48.

Remarques :

Des résultats faussement positifs sont observés en présence de BLSE (CTX-M), de céphalosporinases de type AmpC ou encore de carbapénémases (VIM ou NDM).

3.3 Tests rapides

- **Carba NP test**

Principe :

Détection « rapide » de carbapénémases (classes A, B et D) par la mise en évidence de l'activité de l'enzyme, qui lorsqu'elle est sécrétée par la bactérie dégrade la carbapénème conduisant à la production d'un composé acide, qui va faire virer l'indicateur coloré présent dans le milieu (réaction colorimétrique ou acidimétrique).

Mode opératoire :

Ce test existe sous forme de plusieurs kits commercialisés prêts à l'emploi à savoir Rapidec Carba NP (bioMérieux), Neo Rapid Carba screen (Rosco) et β CARBA Test (Biorad).

Le protocole originel détaillé est disponible en ligne sur le lien <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/expertise-des-souches-1.html>

- Répartir 100 μ l de tampon de lyse Tris-HCl 20 mM (B-PERII, Bacterial Protein Extraction Reagent, Thermo Scientific, Pierce) dans deux tubes Eppendorf (A, B) d'une contenance de 1,5 ml.
- Dissoudre dans chaque tube 3 à 5 colonies de la souche à tester. Il est préférable de prélever les colonies ayant poussé autour des carbapénèmes directement à partir des boîtes d'antibiogramme.
- Vérifier l'homogénéité de la suspension obtenue, mélanger par pipetage au besoin.
- Ajouter 100 μ l de solution de rouge de phénol 0,1 mM (pH= 7,8 et contenant du ZnSO₄ à 0,1 mM) au tube A et 100 μ l de la même solution additionnée de 6 mg/ml d'imipénème au tube B. Ce dernier mélange doit être préparé extemporanément.
- Incuber à 35°C pendant une durée maximale de 2 heures.
- Lire visuellement tout virage de couleur au niveau des deux tubes.

Interprétation	tube A	tube B (+ imipénème 6 mg/l)
Pas de carbapénémase	Rouge/ Rouge orangé	Rouge/ Rouge orangé
Présence de carbapénémase	Rouge/ Rouge orangé	Jaune- orangé/Jaune
Non interprétable	Jaune	Jaune

- **Test immuno chromatographique**

Principe

Détection « rapide » de la présence des carbapénèmases des classes A, B et D en précisant leur type moléculaire KPC, NDM, OXA-48,IMP, VIM .

Le principe du test est basé sur la mise en évidence des immun- complexes antigène- anticorps colorés sur une bandelette de nitrocellulose sensibilisée par des anticorps monoclonaux murins spécifiques des épitopes de l'enzyme (carbapénémase).

Mode opératoire

Ce test existe sous forme de Kits commercialisés prêts à l'emploi pour la détection des principales carbapénèmases (OXA-48 et OXA-163, KPC, NDM, VIM, IMP) en simplex ou en multiplex.

- Une ôse pleine d'une culture pure et fraîche de la souche à tester est mise en suspension dans le tampon de lyse, la suspension est alors homogénéisée.
- Trois gouttes de cette dernière seront ensuite déposées sur la cassette du test immuno chromatographique.
- Le conjugué contenant les anticorps monoclonaux va migrer en même temps que l'échantillon et un contact va se produire avec les anticorps ,dirigés contre la carbapénémase ciblée, préalablement adsorbés sur la membrane de nitrocellulose.

Lecture et interprétation

La formation du complexe carbapénémase-conjugué sera visualisée par une bande de couleur rouge en un temps n'excédant pas les 15 mn.

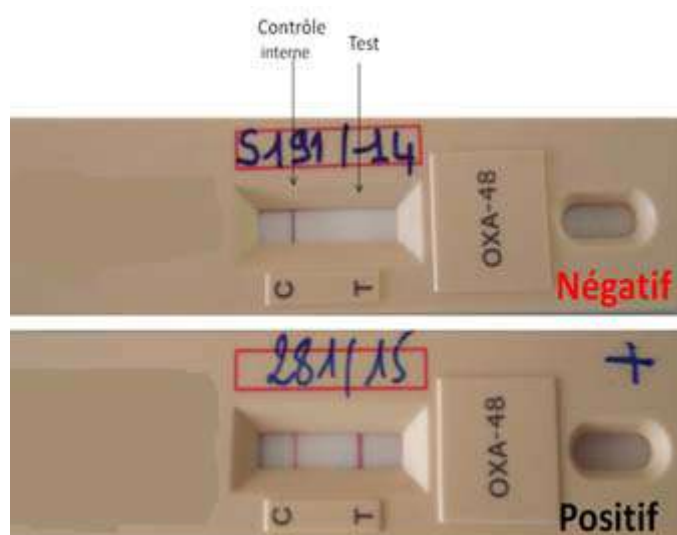


Figure 14 : Test immunochromatographique pour la détection des carbapénèmases

Source : Laboratoire de bactériologie médicale IPA

Tableau 21 : Interprétation des résultats des différents tests de détection des carbapénémases

	mCIM	eCIM	EDTA	Acide boronique	Témocilline
Carbapénémase de classe A (KPC)	+	-	-	+	-
Carbapénémase de classe B (VIM,IMP,NDM)	+	+	+	-	-
Carbapénémase de classe D (Oxa-48)	+	-	-	-	+

mCIM :Modified carbapenem inactivation method, eCIM:EDTA Modified carbapenem inactivation method,MHT:Modified Hodge Test,EDTA:Ethylène diaminotétracétique,NDM: New Delhi Metalo β -lactamase.KPC:*Klebsiella* producing carbapenemase,VIM:Verona Imipenemase,IMP : Imipenemase OXA:Oxacillinase.

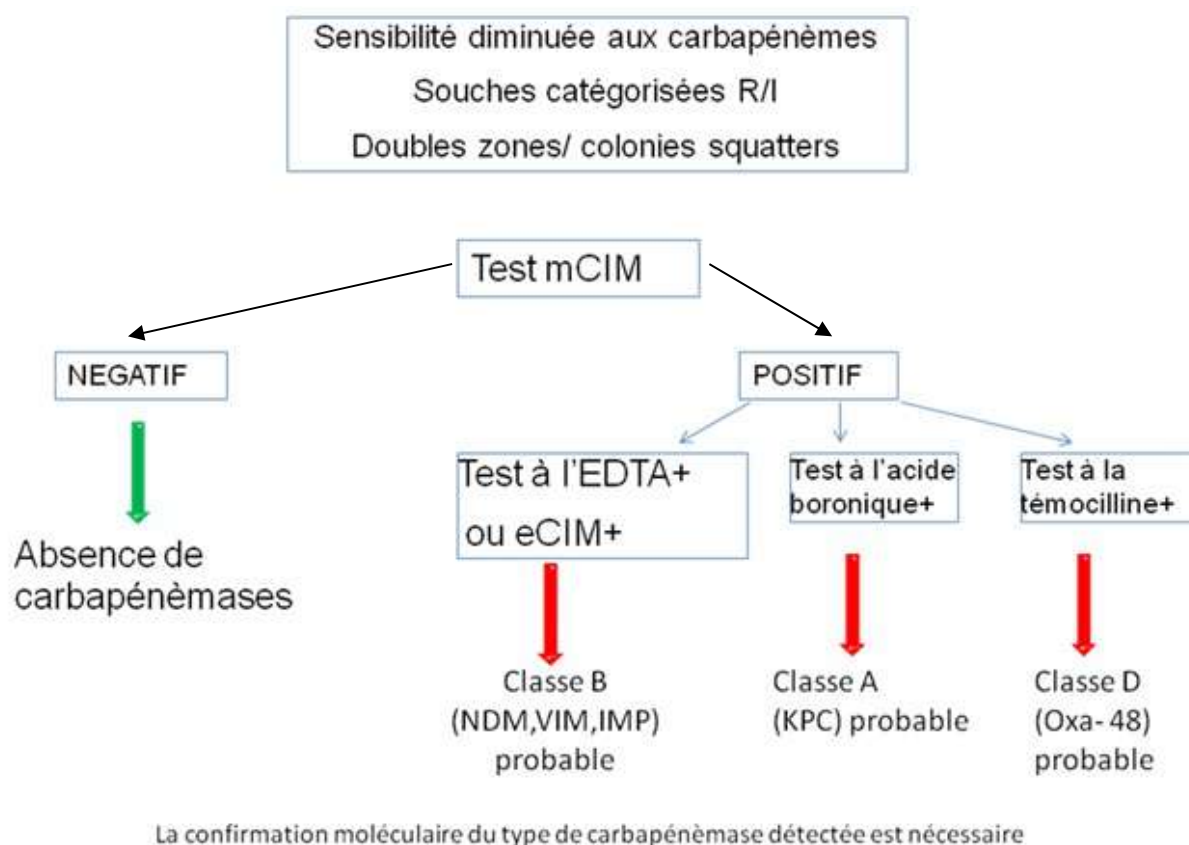


Figure 15 : algorithme de détection des carbapénémases chez les entérobactéries

II- Recherche de β lactamases chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*

Tableau 22 : Détection phénotypique des différents mécanismes affectant l'activité des β - lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*

(Extrait de AntibioGramme, P.Courvalin, édition 2012)

<div>Mécanismes</div> <div>ATB</div>	Surexpression de la céphalosporinase AmpC	Pénicillinasés		β -lactamases à Spectre étendu BLSE		Carbapénémases IMP , VIM SPM , GIM
		TEM PSE	Oxa	PER VEB	OXA	
Ticarcilline	I/R	R	R	R	R	R
Ticarcilline+Acide clavulanique	R	I/S	I/R	S/I	I/R	R
Piperacilline	I/R	I/R	I/R	I/R	I/R	I/S
Piperacilline+ Tazobactam	I/R	I/S	I/R	S/I	I/R	I/S
Cefsulodine	I/R	I/R	I/R	R	I/R	R
Ceftazidime	I/R	S	S	R	I/R	R
Cefpirome	I/R	S	I/R	I/R	I/R	R
Cefepime	I/R	S	I/R	I/R	I/R	I/R
Aztreonam	I/R	S	S	R	S/I	S
Imipénème	S	S	S	S	S	R
Meropénème	S	S	S	S	S	R

Abréviations : TEM: Temonera, PSE: Pseudomonas specific enzym, OXA: Oxacillinase, IMP: Imipenemase, PER: Pseudomonas Extended Resistance, VEB: Vietnam extended spectrum β -lactamase, VIM: Verona imipenemase, SPM: Sao paulo metallo- β -lactamase, GIM : German imipenemase.

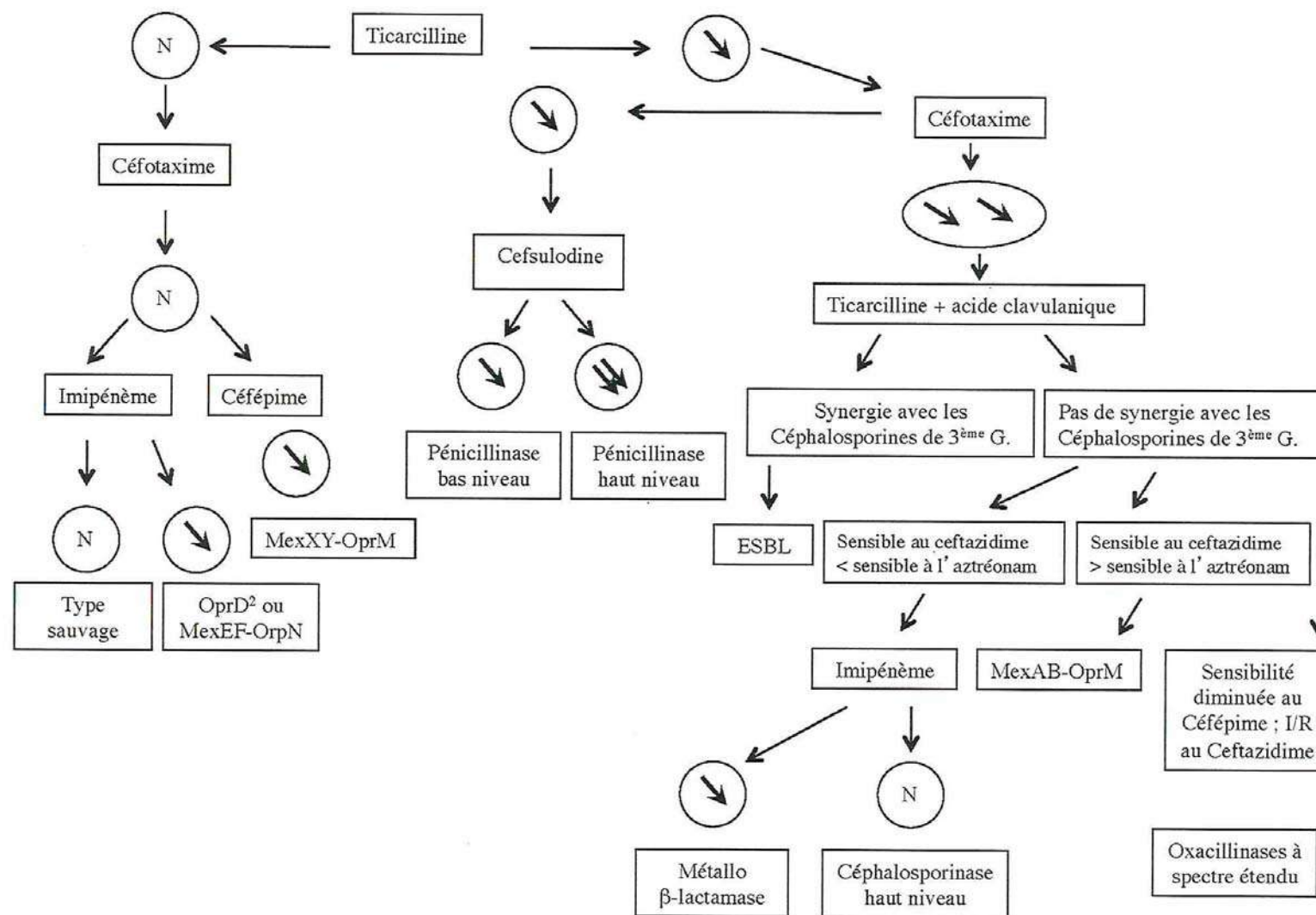


Figure 16 : Algorithme de détection phénotypique des mécanismes de résistance aux β-lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*
(Extrait de AntibioGramme, P.Courvalin, édition 2012)

N : sensibilité normale, S : sensible, I : intermédiaire, R : résistant.

Tableau 23 : Détection phénotypique des différents mécanismes affectant l'activité des β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii*

	Surexpression de la céphalosporinase AmpC	Pénicillinases		BLSE	Carbapénèmases Selon la classification d'Ambler		
		TEM	Oxa		classe D	classe A	classe B
Ticarcilline	S/I	R	R	R	R	R	R
Ticarcilline+Acide clavulanique	S/I	I/R	R	I/R	R	R	R
Pipéracilline	I/R	I/R	R	R	R	R	R
Pipéracilline+Tazobactam	I/R	I/R	R	I/R	R	R	R
Céftazidime	R	S	S	R	S/I	R	R
Céftazidime+avibactam	S	S	S	R	S	S	R
Céfepime	I/R	S	S	R	S/I	R	R
Aztreonam	R	I/R	I/R	R	I/R	R	I/R
Imipénème	S	S	S	S	I/R	R	R
Meropénème	S	S	S	S	I/R	R	R

Abréviations TEM: Temonera, OXA: Oxacillinase, BLSE : β -lactamase à spectre étendu.

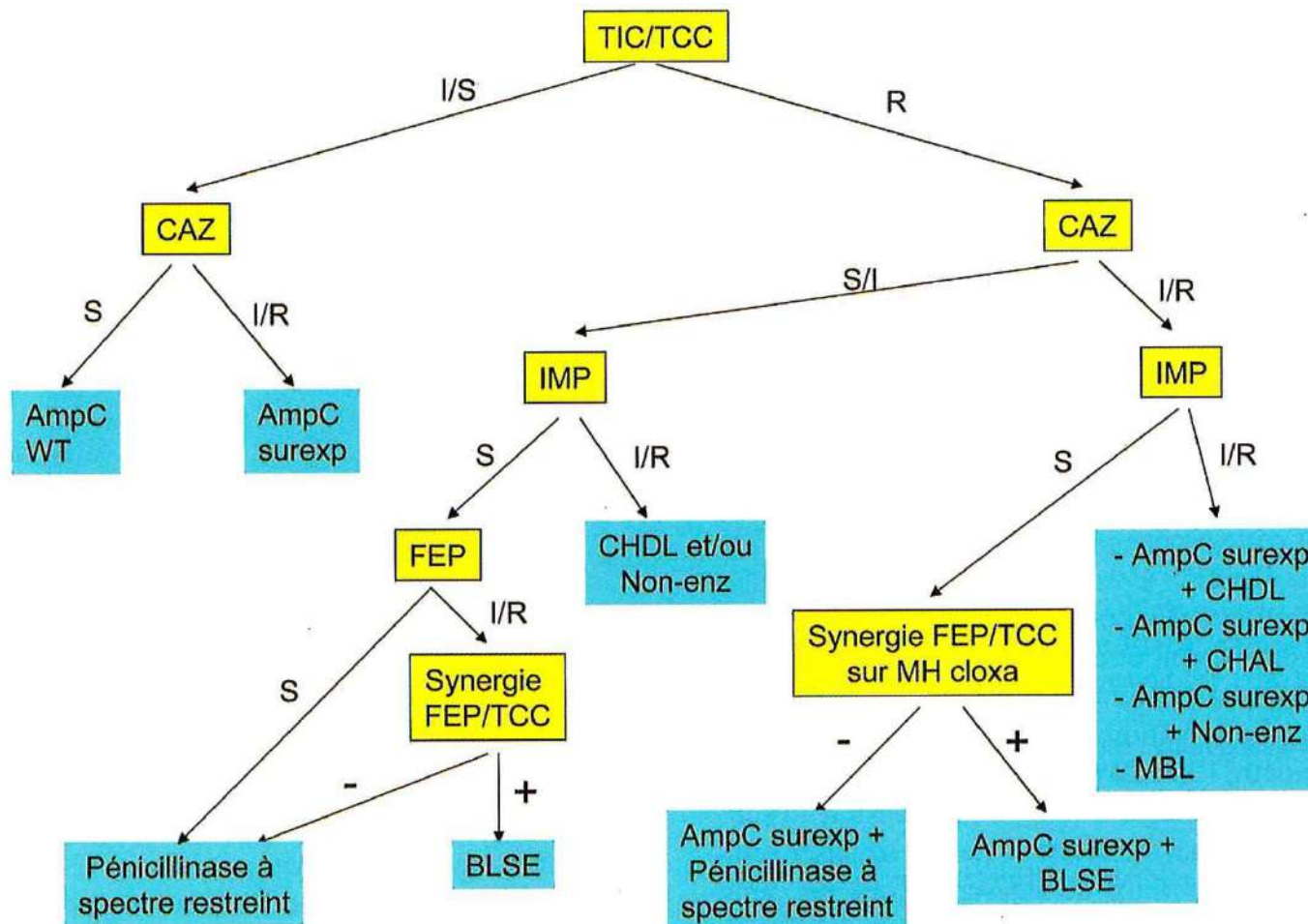


Figure 17 : Algorithme de détection phénotypique des mécanismes de résistance aux β-lactamines chez *Acinetobacter baumannii*

Abréviations :HN : Haut niveau ,MH : Mueller Hinton, Résistance de bas niveau= diamètre réduit , Résistance de haut niveau = diamètre contact

(Extrait de Antibiogramme, P.Courvalin, édition 2012)

S : sensible, I : intermédiaire, R : résistant, CAZ : ceftazidime, FEP : céfépime, IMP : imipénème, TCC : ticarcilline + ac clavulanique, TIC : ticarcilline, AmpC surexp : AmpC surexprimée, CHDL : carbapenem hydrolyzing oxacillinase, Non-enz : mécanisme non-enzymatique, MBL : métallo-β-lactamase, MH cloxa : Mueller Hinton contenant de la cloxacilline, WT : wild type (phénotype sauvage). Cet algorithme est adéquat l'orsqu'un unique mécanisme est présent, l'existence fréquente de plusieurs mécanismes de résistances rend l'interprétation difficile et nécessite des PCRs.

<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

1. Recherche de BLSE et de céphalosporinase

Du fait de l'accumulation de plusieurs mécanismes intriqués (imperméabilité, efflux et présence de carbapénémases), la recherche de ces mécanismes par les tests phénotypiques n'est pas recommandée.

L'antibiogramme pour ces deux germes est réalisé avec et sans cloxacilline.

Tableau 24: Préparation des boîtes de cloxacilline (ou oxacilline)

	<i>P. aeruginosa</i> <i>Acinetobacter</i> spp.
Concentration en cloxacilline	1 mg/ml (1000mg/l) pour <i>Acinetobacter</i> 2 mg/ml (2000mg/l) pour <i>Pseudomonas</i>
Préparation de la solution de la cloxacilline	100 ou 200 mg de cloxacilline +10 ml d'eau distillée
Pour une boîte ronde (90mm)	2 ml de solution+ 18 ml de MH

2. Recherche des carbapénémases chez *Pseudomonas* spp. et *Acinetobacter* spp.

Devant l'absence de diamètres de screening définis par le CLSI 2019, toute souche de *Pseudomonas* spp. ou d'*Acinetobacter* spp. non sensible aux carbapénèmes (imipénème, meropénème) doit faire l'objet de recherche de carbapénémase.

2.1. Méthodes de détection

- **Test de Hodge modifié**

Du fait de son manque de spécificité, le test de Hodge modifié est abandonné pour le *Pseudomonas aeruginosa* et l'*Acinetobacter baumannii* (selon le CLSI 2019)

- **Test à l'EDTA :**

- *Pseudomonas* spp : CAZ+EDTA et IMP+EDTA pour les MBL.
- *Acinetobacter* spp : CAZ+EDTA et IMP+EDTA pour les MBL.

Pour l' *Acinetobacter baumannii* le rapport de la valeur de la CMI par E- test de IPM/ IMP+EDTA est largement supérieur à 8 (de 32 à 64) pour les NDM et est Inférieur ou égal à 8 pour les oxacillinases (OXA-23,OXA-24,OXA-58).

- **Carba-NP Test** (voir la technique décrite pour les entérobactéries) applicable pour *Pseudomonas aeruginosa* selon le CLSI 2019. C'est une technique peu spécifique chez *Acinetobacter baumannii*.
- **Test d'inactivation des carbapénèmes(CIM)** : (voir la technique décrite pour les entérobactéries)
Ce test doit compléter le Carba-NP, test applicable pour *Pseudomonas aeruginosa* et, non applicable pour *Acinetobacter* spp selon les recommandations du CLSI 2019.

Tableau 25: Récapitulatif des tests de recherche de carbapénèmases

Germe Test	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Carba NP test	Applicable	Non applicable
Test mCIM	Applicable	Non applicable
Test à l'EDTA (E test) CMI IPM/IPM+EDTA	>8 (MBL)	>8 (MBL) ≤8 (Oxacillinase)

mCIM: Modified carbapenem inactivation method, EDTA: Ethylen-diamino-tétra-acétique, MBL: Metallo-β-lactamase.

Tableau 26 : Types de β-lactamases et autres mécanismes affectant l'activité des β-lactamines chez *Pseudomonas aeruginosa*

β-lactamases naturelles	Mécanismes			
	Pénicillinasés	BLSE	Carbapénèmases	Imperméabilité
OXA-50 AmpC	TEM1/TEM-2 OXA-1,OXA-2 OXA-4, OXA-5, OXA-9,OXA-10, OXA-13,OXA-15, OXA-18,OXA-20, OXA-31,OXA-46, OXA-47, CARB-1,CARB-2, CARB-3, CARB-4	PER-1, TEM-4, TEM-21,TEM-24, TEM-42, SHV 2a, SHV-5, SHV-12 KPC,GES-1, GES-2, CTX-M1, CTX-M 2, CTX-M43, VEB-1, VEB-2 Oxa-18, Oxa-45	IMP (18 variants) VIM (12 variants) SPM GIM	Fermeture de porine (OprD) Surexpression des systèmes d'efflux MexCD-OprJ MexXY-OprM MexEF-OprN Mex AB-OprM

OXA : Oxacillinase, AmpC : céphalosporinase hyperproduite, TEM : Temoneira, CARB : Carbenicillin hydrolyzing β-lactamase, BLSE :β-lactamase à spectre étendu , PER : *Pseudomonas* Extended Resistance, SHV : Sulfhydryl Variable , KPC :*Klebsiella pneumonia* carbapénèmase , GES : Guiana extended-spectrum β- lactamase , CTX-M : cefotaximase-Munich, VEB : Vietnam extended β- lactamase , IMP :Imipenemase, VIM :Verona Imipenemase , Opr D2 :porine Opr D2, MexCD-OprJ : système d'efflux Mex CD-Porine OprJ, Mex XY- OprM : système d'efflux Mex XY et porine Opr M, Mex EF- Opr N : Système d'efflux MexEF et porine Opr N , Mex AB-Opr M : Système d'efflux Mex AB et porine Opr N.

Tableau 27 : Types de β -lactamases et autres mécanismes affectant l'activité des β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii*

Mécanismes				
β -lactamases naturelles	Pénicillinases	BLSE	Carbapénémases	Imperméabilité
Oxa 51-like AmpC du groupe ADC	TEM-1 , TEM-2 CARB-5 SCO-1 OXA-10 OXA-20 OXA-21	SHV ,TEM VEB,GES PER, CTX-M	OXA-23 OXA-24/40 OXA-58 OXA-143 OXA-235 KPC-GES-14 IMP-VIM SIM -NDM	Protéines de membrane externe ou porines : CarO, OmpW
				Pompes efflux AdeABC AdeIJK
				PLP modifiée

OXA : oxacillinase, AmpC : céphalosporinase hyperproduite ADC : *Acinetobacter* Derived Cephalosporinase, TEM : Temoneira, CARB : Carbenicillin hydrolyzing β -lactamase, SCO : BLSE : β -lactamase à spectre étendu , PER : Pseudomonas Extended Resistance, SHV : Sulfhydryl Variable , KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase , GES : Guiana extended-spectrum β -lactamase , CTX-M : cefotaximase-Munich, VEB : : Vietnam extended β -lactamase , IMP : Imipenemase, VIM : Verona Imipenemase , SIM : Seoul Imipenemase , NDM : New Delhimetallo- β -lactamase, CarO : porine CarO , OmpW : porine OmpW, AdeABC : Pompe d'efflux AdeABC, AdeIJK : Pompe d'efflux AdeIJK

Tableau 28: Gamme de concentration des antibiotiques (CMI par technique de dilution en milieu liquide)

N° tube ou cupule	Volume de la solution d'antibiotique à rajouter	Concentration intermédiaire (µg /ml)	Volume MHLAC	Inoculum	Concentration finale/ tube ou cupule (vol final: 1ml/tube ou 100µl /cupule)
1	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 1024µg/ml	512	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	128 µg/ml
2	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 512µg/ml	256	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	64 µg/ml
3	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 256µg/ml	128	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	32 µg/ml
4	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 128µg/ml	64	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	16 µg/ml
5	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 64µg/ml	32	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	8 µg/ml
6	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 32µg/ml	16	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	4 µg/ml
7	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 16µg/ml	8	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	2 µg/ml
8	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 8µg/ml	4	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	1 µg/ml
9	0,25ml (ou 25µl /cupule) de la solution à 4µg/ml	2	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube(ou 5µl /cupule)	0,5 µg/ml
10	0,25ml (ou 25µl /cupule) de la solution à 2µg/ml	1	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	0,25 µg/ml
11	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 1µg/ml	0,5	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	0,125 µg/ml
12	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 0.5µg/ml	0,25	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	0,063 µg/ml
13	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 0,25µg/ml	0,125	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	0,032 µg/ml
14	0,25ml (ou 25 µl /cupule) de la solution à 0,125µg/ml	0,063	0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	0,016 µg/ml
Témoin	0,25ml (ou 25 µl /cupule) d'eau physiologique		0,70 ml (ou 70µl)	50µl /tube (ou 5µl /cupule)	

III- Détermination de la résistance à la colistine pour les *Enterobacterales*, *Acinetobacter* et *Pseudomonas*.

A- Détermination de la CMI de la colistine en milieu liquide par microdilution pour les *Enterobacterales*, *Acinetobacter* et *Pseudomonas aeruginosa* (selon les recommandations du CLSI-EUCAST joint Polymyxin Breakpoints Working Group)

1. Conditions de manipulation

1.1. Echantillons

- Souches bactériennes pures fraîchement isolée.
- Souches de référence :
 contrôle négatif : *E. coli* ATCC 25922 ou *P. aeruginosa* ATCC 27853
 contrôle positif : *E. coli* NCTC 13846 (*mcr-1*).

1.2. Matériel, réactifs, consommables

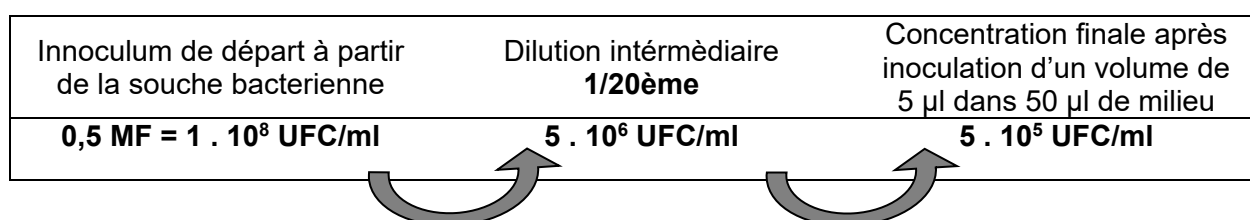
- **Bouillon de Mueller-Hinton ajusté en cations Ca^{2+} et Mg^{2+} (MHLAC)**
- Aucun additif ne doit être ajouté en particulier aucun agent surfactant.
- Les micropalques utilisées doivent être en polystyrène.
- **Colistine sulfate (poudre titrée).**
 Attention, il ne faut pas utiliser de solution injectable de colistiméthate sodique ou colistine méthane sulfonate (prodrogue inactive).

1.3. Gamme de dilution des antibiotiques

- Préparer une gamme de concentrations de la poudre de colistine sulfate (tableau 26), pour un volume final de MHLAC additionné d'antibiotique de 50 ou 100 μl .
- Le solvant utilisé est de l'eau distillée stérile.

1.4. Préparation de l'inoculum

- Pour chaque souche, **réaliser une suspension bactérienne à 0,5 MF ($\sim 10^8$ UFC/ml)** en eau physiologique stérile.
- **La concentration bactérienne après inoculation doit être de 5×10^5 UFC/ml**
- Pour un volume final de 50 μl , il faut diluer la suspension de 0,5Mc au 1/20ème, puis inoculer 5 μl de cette suspension dans 50 μl de milieu (MHLAC avec antibiotique).



2. Interpretations des resultats

Souches	<i>E. coli</i> NCTC 13846	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Entérobactéries	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter</i>
Valeurs critiques	2 -8 mg/l	0,25–2 mg/L	0,5–4 mg/L	R > 2 mg/L S ≤2 mg/L	R ≥4 mg/L S ≤2 mg/L	

B- Tests pour la détermination de la résistance à la colistine pour les entérobactéries et *P.aeruginosa* (selon les recommandations du CLSI M100, 29th ed, 2019)

1- Colistin broth disk elution (CBDE) :

- Préparation de la gamme de dilution de l'antibiotique :
Dans 3 tubes contenant 10ml de MHLAC mettre respectivement 1, 2 et 4 disque(s) de colistine chargé(s) à 10µg afin d'obtenir des concentrations d'antibiotique de 1 µg/ml, 2 µg/ml et 4 µg/ml. Un tube témoin sans disque est servira de contrôle (4 tubes au total)
- Vortexer et laisser à température ambiante pendant 30 à 60 minutes (maximum).
- A partir d'une souche pure, préparer un inoculum bactérien égale à 0.5 McFarland dans de l'eau physiologique stérile.
- Ajouter 50 µl de l'inoculum bactérien dans chacun des 4 tubes, fermer les tubes, les vortexer les tubes à vitesse faible. A partir de ce même inoculum, encemencer une GSF pour contrôler la pureté de la souche.
- Incuber les tubes et la GSF à 35°C pendant 16-20H en atmosphère normale, (les dévisser légèrement).
- Lecture : examiner la GSF afin de vérifier la pureté de la souche
- Procéder à la lecture de la CMI, plus petite concentration donnant un tube clair.
Interprétation : ≤ 2 µg/ml : intermédiaire, ≥ 4 µg/ml : résistant.
- Contrôle de qualité : *E.coli* AR Bank #0349 mcr-1 (≤ 1 - 4 µg/ml) idéalement 4 µg/ml, *P.aeruginosa* (≤ 1 - 4 µg/ml).

2- Colistin Agar Test (CAT) :

- Basé sur la détermination de la CMI de la colistine (colistine sulfate) par dilution en milieu solide sur une gamme réduite de concentrations.
- Préparation de la gamme de dilution de l'antibiotique : préparer 3 boîtes de MHA contenant respectivement une concentration finale de colistine de 1 µg/ml, 2 µg/ml et 4 µg/ml de colistine et une boîte de gélose sans antibiotique qui servira de témoin.
- Préparation de l'inoculum bactérien égal à 0.5 McFarland dans de l'eau physiologique stérile, puis le diluer au 1/10^{ème}.
- Une même boîte permet de tester plusieurs souches à la fois (jusqu'à 10). A l'aide d'une pipette ou d'une ose, encemencer par strie 10 µl de chaque souche.
- Incuber les boîtes à 35°C pendant 16-20H en atmosphère normale.
- A partir de ce même inoculum, encemencer une GSF pour contrôler la pureté de la souche
- Lecture : Examiner la GSF afin de vérifier la pureté et la boîte témoin au niveau de laquelle la culture doit être confluite.
- Procéder à la lecture de la CMI, plus petite concentration inhibant toute culture visible (1 colonie doit être prise en considération).
- **Interprétation : ≤ 2 µg/ml : Intermédiaire, ≥ 4 µg/ml : résistant.**
- Contrôle de qualité : *E.coli* AR Bank #0349 mcr-1 (≤ 1 - 4 µg/ml), *P.aeruginosa* (≤ 1 - 4 µg/ml).

III- Aztreonam Plus Ceftazidime-Avibactam Broth Disk Elution Method

En raison des options thérapeutiques limitées, il peut s'avérer nécessaire d'évaluer l'activité in vitro de l'association aztréonam et ceftazidime-avibactam pour guider la prise en charge thérapeutique des infections bactériennes à BGN multirésistants producteurs de carbapénémases MBL.

Technique :

- Laissez les tubes CAMHB (5 ml) et les disques antimicrobiens se réchauffer à température ambiante.
- Dans 3 tubes contenant 05 ml de MHLAC mettre respectivement 1 disque d'aztréonam(ATM) chargé à 30-µg, 1 disque de ceftazidime-avibactam (CZA) chargé à 30/20-µg , 1disque aztréonam ET 1 disque de ceftazidime-avibactam (ATM + CZA chargé(s) à 10µg afin d'obtenir des concentrations d'antibiotique de 6 µg/mL pour l'aztréonam, 6 µg/mL ceftazidime, 4 µg/mL avibactam.
- Ajouter un tube témoin sans disque d'antibiotiques.
- Vortexer et laisser à température ambiante pendant 30 minutes (ne pas dépasser 60 minutes).
- A partir d'une souche pure, préparer un inoculum bactérien égal à 0.5 McFarland dans de l'eau physiologique stérile.
- Ajouter 25 µl de l'inoculum bactérien dans chacun des 4 tubes, fermer les tubes, les vortexer les tubes à vitesse faible. A partir de l'inoculum, ensemercer une GSF pour contrôler la pureté de la souche.
- Desserrez légèrement les bouchons avant l'incubation
- Incuber les tubes et la GSF à 35°C pendant 16-20H en atmosphère normale.
- Lecture : examiner la GSF afin de vérifier la pureté de la souche
- Examinez le tube témoin, qui doit présenter un trouble évident pour que le test soit valide.
- Examinez chacun des tubes ATM, CZA et ATM + CZA pour déceler une croissance ou une absence de croissance. Toute turbidité constatée à l'œil nu doit être signalée comme une « croissance ».
- Pour les Entérobactéries et *S. maltophilia* :
 - Pas de croissance = sensible
 - Croissance = non sensible

Souche	Caractéristiques des souches	Résultats
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Sensible à tous antibiotiques testés	ATM : Pas de croissance : sensible CZA : Pas de croissance : sensible ATM + CZA : Pas de croissance : sensible
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1705 TM	Non sensible aux ATM. Sensible au CZA et ATM + CZA	ATM : Croissance : non sensible CZA : Pas de croissance : sensible ATM + CZA : Pas de croissance : sensible
<i>K. pneumoniae</i> ATCC BAA-2146 TM	Non sensible à l'ATM ou au CZA. Sensible à ATM + CZA.	ATM : Croissance : non sensible CZA : Croissance : non sensible ATM + CZA : Pas de croissance : sensible
<i>E. coli</i> AR Bank #0348	Non sensible à tous antibiotiques testés	ATM : Croissance : non sensible CZA : Croissance : non sensible ATM + CZA : Croissance : non sensible

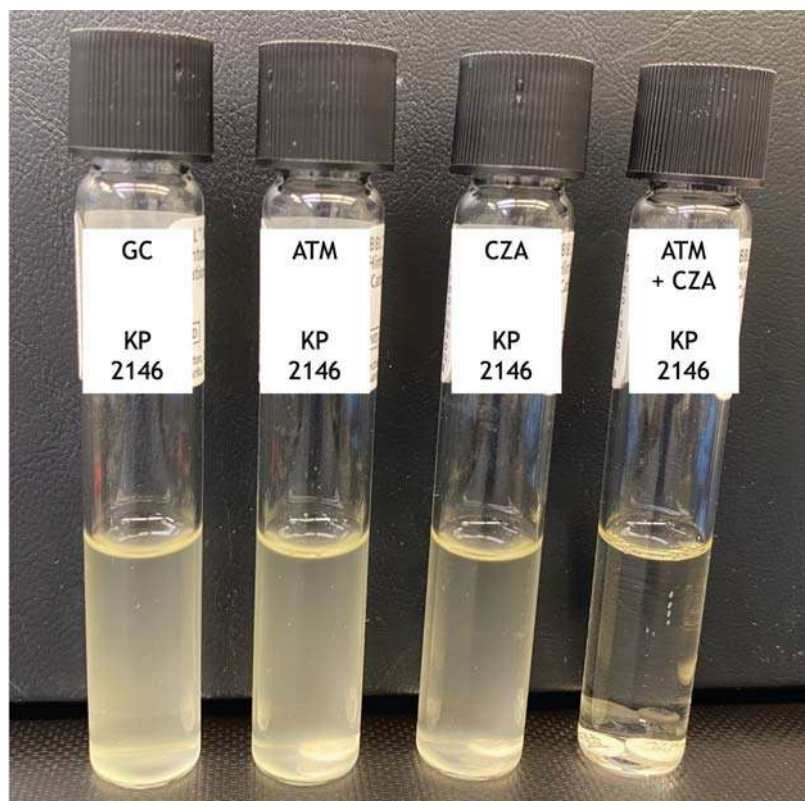


Figure 18 : Aztreonam Plus Ceftazidime-Avibactam Broth Disk Elution : *K.pneumoniae* ATCC BAA-2146

IV- Test complémentaire phénotypique pour la détection de la résistance de haut niveau aux aminoglycosides : Test rapide aminoglycoside NP (Nordmann/Poirel)

Le test rapide aminoglycoside NP peut être mis en œuvre pour la détermination de la résistance multiple des entérobactéries aux **aminoglycosides**, en particulier les souches productrices de carbapénémases. L'utilisation du test rapide aminoglycoside NP peut contribuer à identifier rapidement les porteurs d'isolats multirésistants (MDR) produisant des ARNr méthylases 16S à médiation plasmidique, à mettre en œuvre rapidement des mesures de contrôle des infections et à contrôler leur propagation.

Il est basé sur la détection du métabolisme du glucose qui, suite à sa dégradation par les entérobactéries et en présence d'une concentration définie d'amikacine additionnée à de la gentamicine, se traduira par la formation d'un acide observé par le virage de l'indicateur coloré (le rouge de phénol) de l'orange au jaune. (Nordmann *et al.*, 2017).

• **Mode opératoire**

1. Préparation de l'inoculum bactérien

- A partir d'une culture pure de 18 h, préparer une suspension bactérienne d'une densité optique de 3 à 3,5 McFarland.
- Un témoin positif (souche productrice de méthylase) et un témoin négatif (*E. coli* ATCC 25922) sont utilisés pour valider le test.

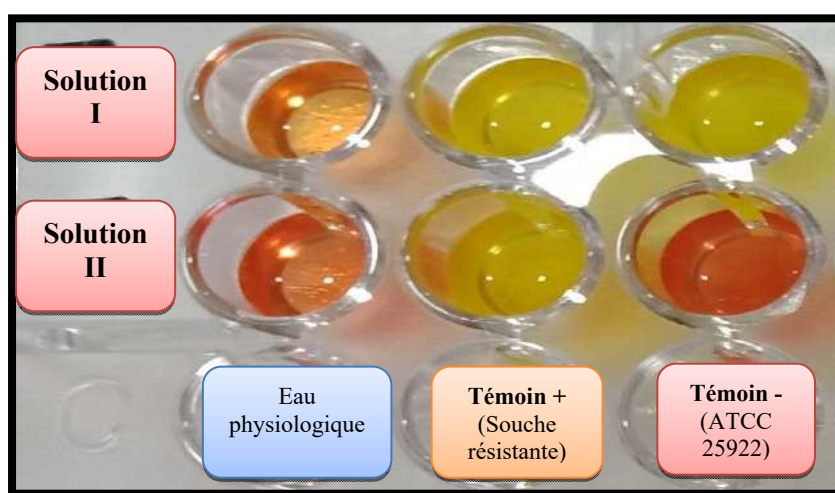
<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

2. Préparation de la solution de travail

- La solution 1 a été préparée comme suit : Culture medium additionné d'indicateur de pH : 6.25 g de poudre MHLAC + 0.0125 g Rouge de phénol + 225 ml d'eau distillée. Le pH de la solution a été ajusté à 6.7 par une solution à 1 M de HCl. La solution a été autoclavée à 121°C pendant 15 min. Après refroidissement, a été ajouté à la solution 125 ml de D-glucose à 10% anhydre stérilisé par filtration. Des aliquots de 10 ml ont été réalisés et conservés à +4°C pendant une semaine ou -20°C pendant un an.
- La solution 2 (solution mère d'AG) a été préparée comme suit : 4 mg d'amikacine et de gentamicine en poudre ont été dilués dans 10 ml d'eau distillée stérile dans des tubes en verre pour obtenir une solution mère à une concentration de 1,6 mg/ml. Les poudres d'antibiotiques et les solutions mères peuvent être conservées respectivement à 4°C et 20°C avant leur utilisation.
- Pour chaque isolat, deux puits ont été inoculés en parallèle avec la suspension bactérienne, avec et sans le mélange.

3. Test rapide aminoglycoside NP

- 150 µl de solution NP d'aminoglycoside rapide sans AG a été transféré dans les 9 puits de la première rangée.
- 150 µl de solution d'aminoglycoside rapide NP additionnée d'AG mix a été transféré dans les 9 puits de la seconde rangée.
- 50 µl d'eau physiologique stérile ont été ajoutés dans les deux puits de la première colonne.
- 50 µl de la suspension d'isolat sensible aux AG utilisée comme contrôle négatif (*E. coli* ATCC 25922) ont été ajoutés dans les deux puits de la deuxième colonne.
- 50 µl de la suspension d'isolat résistant à l'AG utilisée comme contrôle positif (producteur d'ARNr méthylase 16S) ont été ajoutés dans les deux puits de la troisième colonne.
- 50 µl de la suspension d'isolat testée ont été ajoutés aux deux puits de la dernière colonne.
- La plaque inoculée a été incubée jusqu'à 4 h à 35±2°C à l'air ambiant, laissée non scellée et sans agitation. Le plateau a été laissé non scellé en raison du besoin en oxygène pour le métabolisme du glucose chez les Entérobactéries.
- La première lecture a été effectuée après 10 minutes et ensuite chaque 1 h jusqu'à la 4^{ème} heure (Nordmann *et al.*, 2017).



Références bibliographiques :

1. CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 35th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2025.
2. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>.
3. Hammoudi. D, A. Moubareck. C, K. Sarkis. D. 2014. How to detect carbapenemase producers? A literature review of phenotypic and molecular methods. *J. Antimicrob. Methods*; 107:106-118.
4. Pierce. VM , Simner. PJ, Lonsway .DR , Roe-Carpenter. DE, Johnson. JK , Brasso .WB .2017. Modified Carbapenem Inactivation Method for Phenotypic Detection of Carbapenemase Production among *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* ; 55(8):2321-2333.
5. Van der Zwaluw. K , De Haasn. A, Pluister. GN, Bootsma. HJ, De Neeling. AJ, Schouls. LM. 2015. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. *PLoS One*; 10(3): e0123690.
6. Huang .T, Poirel. L, Bogeaerts. P, Berhin. C, Nordmann. P, Glupczynski .Y. 2014. Temocillin and piperacillin/tazobactam resistance by disk diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in geographical areas with high prevalence of OXA-48 producers. *J. Antimicrob. Chemother* ; 69(2):445-50.
7. Glupczynski. Y, Jousset. A, Evrard. S, Bonnin. RA, Huang. TD, Dortet L. 2017. Prospective evaluation of the OKN K-SeT assay, a new multiplex immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48 -like, KPC and NDM carbapénèmases. *J Antimicrob Chemother* ;1;72 (7):1955-1960.
8. Mediavilla-Gradolph. C, Sáinz-Rodríguez .R, Valverde-Troya. M, De Toro-Peinado .I , Bermudez-Ruíz. MP, Palop-Borrás .B . 2017. Evaluation of an immunochromatographic test for the detection of OXA-48 carbapenemase. *Rev Esp Quimioter* ; 30(1):45-49.
9. Nordman. P, Naas. T. β -lactamines et *Pseudomonas aeruginosa*. In Courvalin P, Leclercq R. AntibioGramme. Paris : 3^{ème} Edition ESKA ; 2012.p.189-206.
10. Naas .T, Nordman. P. β - lactamines et *Acinetobacter*. In Courvalin .P, Leclercq. R. AntibioGramme. Paris : 3^{ème} Edition ESKA ; 2012.p 459-474.

Tests complémentaires pour *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. et *Haemophilus* spp.

I. Détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus* spp.

II. Recherche de la β -lactamase

III. Recherche de la sensibilité diminuée aux glycopeptides de *Staphylococcus aureus*, staphylocoques à coagulase négative (SCN) et *Enterococcus* spp.

1. *S. aureus* et SCN

2. *Enterococcus* spp.

3. Phénotypes de résistance aux glycopeptides

IV. Détection d'*Haemophilus* spp. de sensibilité diminuée aux β -lactamines

L'antibiogramme standard n'est pas suffisant pour l'interprétation du profil de sensibilité vis-à-vis de certains antibiotiques ou familles d'antibiotiques, des tests complémentaires sont proposés et résumés dans le tableau suivant :

Tableau 29 : Tableau récapitulatif des différentes recherches complémentaires

	β -lactamase	Résistance Vancomycine	BLNAR
<i>Haemophilus</i> spp.	X		X
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	X		
<i>Moraxella</i> spp.	X		
<i>Staphylococcus</i> spp.	X	X	
<i>Enterococcus</i> spp.	X	X	

Abréviations: BLNAR (β -lactamase Negative Ampicillin Resistant),

I. Détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus* spp.

La détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus*, peut se faire par une ou plusieurs techniques :

- Test du disque de céfoxitine (30µg)
- détermination de la CMI de l'oxacilline
- recherche du gène *mec A*
- recherche de la production de PLP2a

Tableau 30 * : Screening tests pour la détection de la résistance à la méticilline (résistance à l'oxacilline) chez *Staphylococcus* spp.

Espèces	Antibiogramme		CMI MH agar hypersalé 2%	PCR/Agglutination		Screening test oxacilline sur MH agar hypersalé 4% + 6 µg/mL d'oxacilline
	Cefoxitine	Oxacilline	Oxacilline	<i>mec A</i>	PLP2a	
<i>S. aureus</i>	OUI (16-18h)	NON	OUI (24h)	OUI	OUI	OUI (24h)
<i>S. lugdunensis</i>	OUI (16-18h)	NON	OUI (24h)	OUI	OUI	NON
<i>S. epidermidis</i>	OUI (24h)	OUI (16-18h)	OUI (24h)	OUI	OUI	NON
<i>S. pseudintermedius</i>	NON	OUI (16-18h)	OUI (24h)	OUI	OUI	NON
<i>S. schleiferi</i>	NON	OUI (16-18h)	OUI (24h)	OUI	OUI	NON
<i>Staphylococcus</i> sp. autres que ceux cités ci-dessus	OUI (24h)	NON	OUI (24h)	OUI	OUI	NON

- Pour *S. aureus* et *S. lugdunensis* : la résistance à l'oxacilline peut être due à un mécanisme autre que le gène *mec A*. Ce mécanisme est rare. Les souches *mec A* (-) ayant des CMI de l'oxacilline ≥ 4 µg/ml doivent être reportées OXA R.

- BORSA (Borderline Oxacillin Resistant *S. aureus*) : ces souches montrent une activité diminuée de l'oxacilline (ou une résistance de bas niveau) non due à la présence du gène *mec A*, mais liée à l'hyperproduction de pénicillinase touchant l'oxacilline.

- MODSA (MODified *S. aureus*) ou résistance par modification des PLP: la modification des PLP normalement présentes chez *S. aureus* (surtout la PLP4) entraîne des CMI « borderline » ou limites de l'oxacilline. Les recherches de la PLP2a ou du gène *mec A* sont négatives. Pour confirmer une souche MODSA, réaliser un antibiogramme avec un disque d'imipénème (PLP1), de céfotaxime (PLP2), d'oxacilline (PLP3) et de céfoxitine (PLP4).

II. Recherche de la β -lactamase

Ce test doit être effectué précocement, en raison des implications thérapeutiques évidentes.

Plusieurs techniques existent : chromogéniques, microbiologiques et iodométriques.

La technique chromogénique permet de donner les résultats le jour même, mais à défaut de pouvoir la pratiquer, les techniques microbiologiques doivent être utilisées.

La recherche de la production de la β -lactamase est obligatoire pour toute souche de *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus* spp., *Moraxella catarrhalis*, *Enterococcus* spp. et *Staphylococcus* spp.

Pour les bactéries anaérobies, les souches de *Bacteroides* du groupe *fragilis* sont présumées résistantes à la pénicilline et à l'ampicilline.

Chez les autres bactéries anaérobies à Gram(+) et à Gram (-), la β -lactamase peut être recherchée par la méthode chromogénique (test à la nitrocéfine).

Ci-dessous le protocole de la technique microbiologique (test du trèfle).

❖ Matériel

- Souches de référence : *S. aureus* ATCC 25923 sensible à la pénicilline
S. aureus ATCC 43300 résistant à la pénicilline

- Souches à tester
- Gélose Mueller-Hinton (MH)
- Disque de pénicilline G ou ampicilline

❖ Technique

Ensemencer une souche de *S. aureus* ATCC 25923 sur une gélose MH pour *Moraxella catarrhalis* ou MH au sang cuit pour *Neisseria gonorrhoeae* et *Haemophilus* spp.

Appliquer un disque de pénicilline G au centre de la boîte dans le cas d'un *Staphylococcus* spp. ou *N.gonorrhoeae* ou un disque d'ampicilline dans le cas d'*Haemophilus* spp., *Enterococcus* spp. ou *M.catarrhalis*.

Ensemencer en stries radiales (du centre de la boîte vers la périphérie) la souche à tester, une souche témoin négatif (*S. aureus* ATCC 25923), une souche témoin positif (*S. aureus* ATCC 43300).

Incuber la boîte 18h à 35°C en atmosphère normale ou 24h en atmosphère enrichie en CO₂ pour *Haemophilus* spp. et *N. gonorrhoeae*.

❖ Lecture et interprétation

La production de β - lactamase (pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact du disque d'ampicilline ou de pénicilline (figure 19).

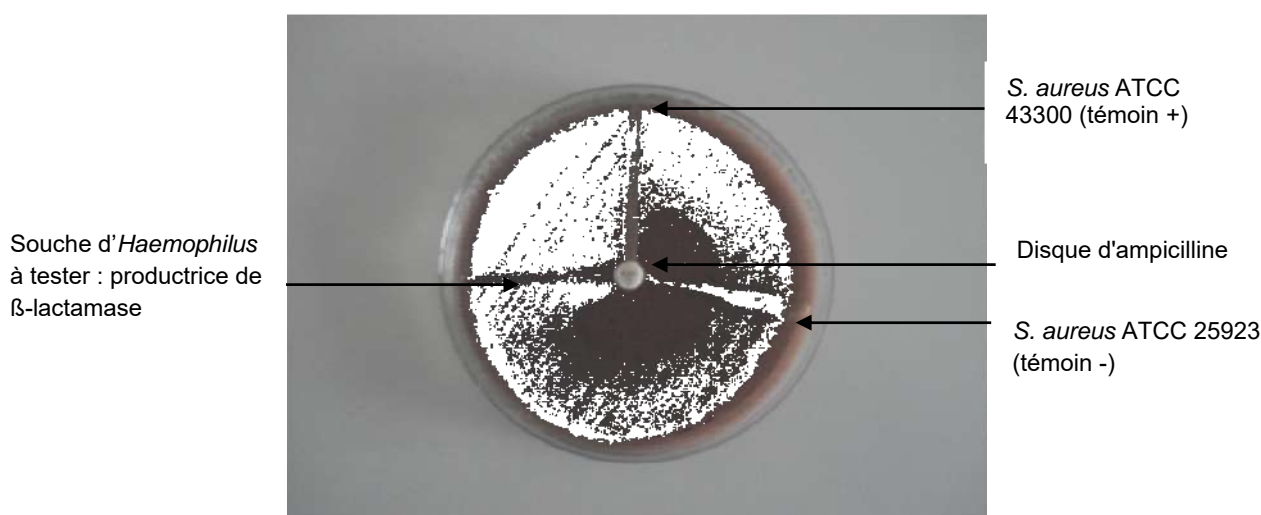


Figure 19 : Détection de la β -lactamase chez *Haemophilus* spp. par la technique microbiologique (test du trèfle)

III. Recherche de la sensibilité diminuée aux glycopeptides chez *Staphylococcus aureus*, staphylocoque à coagulase négative (SCN) et *Enterococcus* spp.

1. *S. aureus* et SCN

a – Pour étudier la sensibilité des staphylocoques à la vancomycine, le CLSI recommande la détermination de la CMI pour toutes les souches.

En effet, la méthode de diffusion des disques ne permet pas de différencier les souches de :

- ***S. aureus*** sensibles à la vancomycine des souches de sensibilité diminuée (intermédiaire).
- **SCN** sensibles, intermédiaires ou résistantes (diamètres d'inhibition similaires)

Le disque de vancomycine (30 μ g) permet la détection des souches de ***S. aureus*** de phénotype *vanA* (VRSA); ces souches ne présenteront aucun diamètre d'inhibition autour du disque de vancomycine (< 6 mm). L'identification de telles souches devra être confirmée.

Toute souche de *S. aureus* dont la CMI de la vancomycine \geq 8 μ g/ml doit être envoyée à un laboratoire de référence.

Toute souche de SCN dont la CMI de la vancomycine \geq 32 μ g/ml doit être envoyée à un laboratoire de référence.

b - Pour étudier la sensibilité des staphylocoques à la teicoplanine, utiliser la méthode de diffusion des disques et/ou la détermination de la CMI en présence des signes d'alerte suivants :

- Diamètre <14 mm pour la teicoplanine.
- Une différence de 3 mm (au moins) entre les diamètres d'inhibition de la vancomycine et la teicoplanine.
- Présence de colonies dans les zones d'inhibition de la vancomycine et/ou teicoplanine.
- Interactions (synergie ou antagonisme) entre les disques de glycopeptides et

<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

- oxacilline.
- Résistance de la souche à la méticilline, à la gentamicine ou à la rifampicine.
- Lors d'infections sévères.

La mise en évidence des résistances aux glycopeptides se fait en deux étapes : étape de screening ou criblage et test de confirmation (tableau 32).

Remarque : La détermination de la CMI ne permet pas d'identifier les souches hétéro- VISA. Pour ce faire, il faut une analyse de population (pratiquée au niveau d'un laboratoire de référence) (figure 3).

A défaut, les critères qui font suspecter une souche hétéro- VISA sont les suivants:

- ❖ CMI de la vancomycine = 4 mg/l en E-test
- ❖ Sensibilité à la vancomycine (CMI = 2 ou 4 mg/l) et réponse limite à la teicoplanine (CMI = 8 mg/l) en E-test.

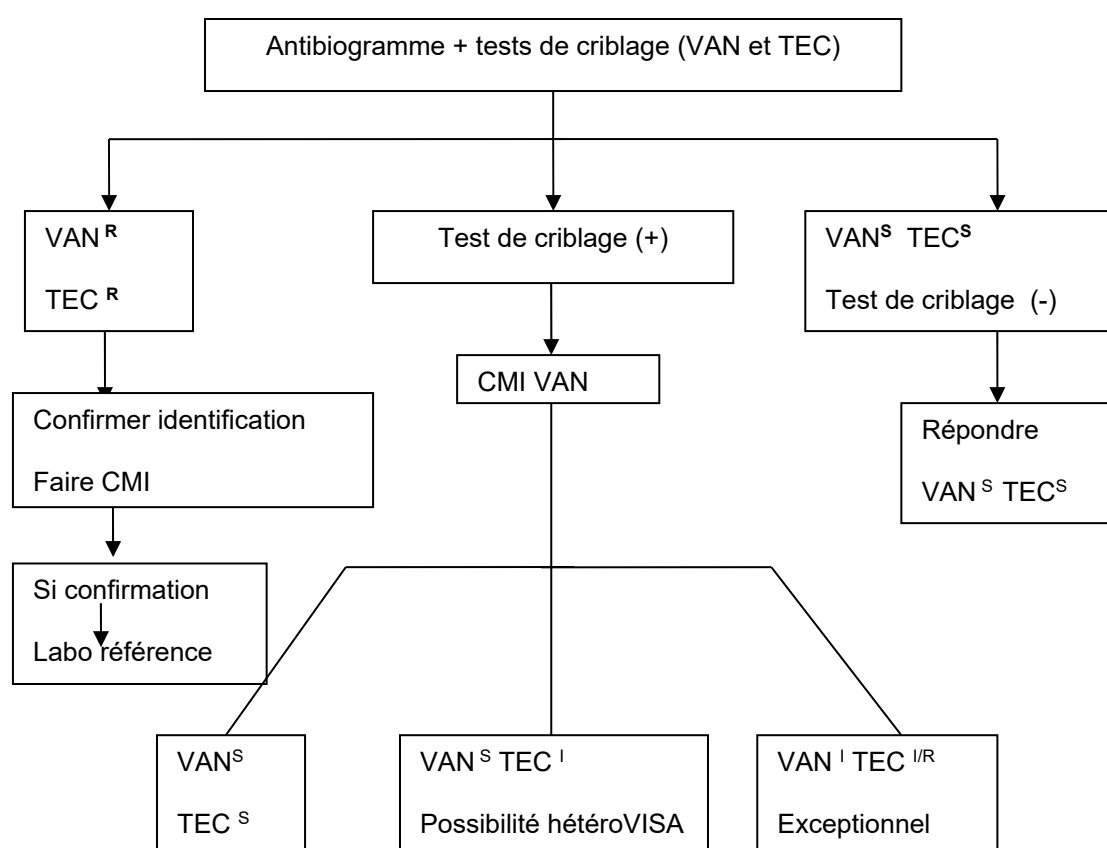


Figure 20: Algorithme décisionnel pour l'étude de la sensibilité de *S. aureus* aux glycopeptides

Abréviations: VAN (vancomycine), TEC (teicoplanine), VISA (vancomycine intermédiaire *S. aureus*), CMI (concentration minimale inhibitrice), S (sensible), I (intermédiaire), R (résistant).

2. *Enterococcus* spp.

Acronymes :

- VRE ou ERV: Vancomycine Resistant *Enterococcus*
- ERG : Entérocoque Résistant aux Glycopeptides

L'isolement d'une souche d'*E.faecium* résistante à la vancomycine est une alerte car il y a un risque d'épidémie qui nécessite une enquête de dépistage.

- Critères de présomption ou d'alerte :

- Diamètre <17 mm pour vancomycine et <14 mm pour la teicoplanine.
- Une différence de 3 mm (au moins) entre les diamètres d'inhibition de la vancomycine et la teicoplanine.
- Bord à contours flous de la zone d'inhibition autour du disque de vancomycine quel que soit le diamètre d'inhibition.
- Présence de colonies dans les zones d'inhibition de la vancomycine et/ou teicoplanine.
- En cas d'échec thérapeutique.

En présence de l'un de ces critères, il est recommandé de rechercher la résistance aux glycopeptides.

La mise en évidence de ces résistances se fait en deux étapes : étape de screening ou criblage et test de confirmation (tableau 32).

3. Phénotypes de résistance aux glycopeptides

Différents gènes sont impliqués dans la résistance aux glycopeptides donnant des niveaux de résistance variables (tableau 31).

Tableau 31 : Phénotypes de résistance aux glycopeptides

Phénotype de résistance	Conséquences thérapeutiques
VanA : Haut niveau de résistance (CMI VAN: 64-1000 µg/ml) (CMI TEC: 16-512 µg/ml)	- Vancomycine et Teicoplanine seules, inefficaces - Perte de la synergie avec la gentamicine
VanB : Niveau de résistance variable (CMI VAN : 4-1000 µg/ml) (CMI TEC: 0,5-1 µg/ml)	- Activité de VAN diminuée, perte de la synergie avec gentamicine et streptomycine - Teico seule activité conservée avec risque élevé de sélection de mutants résistants - Synergie en association conservée
VanC / VanE : Bas niveau de résistance (CMI VAN: 2-32 µg/ml) (CMI TEC: 0,5-1 µg/ml)	Aux doses <u>optimales</u> , pas de conséquences
VanD : Niveau de résistance modéré (CMI VAN: 64-128 µg/ml) (CMI TEC: 4-64 µg/ml)	Activité in vitro conservée, mais pas d'activité in vivo

Abréviations : VAN (vancomycine), TEC (teicoplanine), CMI (concentration minimale inhibitrice).

Tableau 32* : Screening de la résistance à la vancomycine chez *S. aureus* et *Enterococcus* spp.

Test de screening	CMI Vancomycine $\geq 8 \mu\text{g/mL}$	
Méthode	Dilution en milieu gélosé	Dilution en milieu gélosé
Microorganisme	<i>S. aureus</i>	<i>Enterococcus</i> spp.
Milieu	BHI agar	BHI agar
Concentration de l'antibiotique	6 $\mu\text{g/mL}$	6 $\mu\text{g/mL}$
Inoculum	0,5 MF De préférence, utiliser une micropipette, déposer un spot de 10 μL sur la surface de la gélose. Alternativement, utiliser un écouvillon trempé dans la suspension et essoré de l'excès de liquide, ensemencer une surface de 10 à 15 mm de diamètre sous forme de spot ou ensemencer un quadrant entier.	0,5 MF De préférence, utiliser une micropipette, déposer un spot de 1-10 μL sur la surface de la gélose. Alternativement, utiliser un écouvillon trempé dans la suspension et essoré de l'excès de liquide, ensemencer une surface de 10 à 15 mm de diamètre sous forme de spot ou ensemencer un quadrant entier.
Conditions d'incubation	35 °C \pm 2°C ; air ambiant	35 °C \pm 2°C ; air ambiant
Durée de l'incubation	24 heures	24 heures
Résultats	Examiner minutieusement sous lumière transmise à la recherche de > 1 colonie ou d'une culture sous forme d'un voile fin. > 1 colonie : présomption de sensibilité diminuée à la vancomycine	> 1 colonie : présomption de résistance à la vancomycine
Tests additionnels et rendu des résultats	Faire CMI de la vancomycine, en utilisant une méthode de CMI validée, sur les colonies de <i>S. aureus</i> qui ont cultivé sur le milieu BHI agar additionné de 6 $\mu\text{g/mL}$ de vancomycine. Ce screening ne détecte pas toutes les souches de <i>S. aureus</i> de sensibilité intermédiaire à la vancomycine. Certaines souches pour lesquelles la CMI à la vancomycine est à 4 $\mu\text{g/mL}$ ne cultiveront pas sur ce milieu.	Faire CMI de la vancomycine sur les colonies d' <i>Enterococcus</i> spp. qui ont cultivé sur le milieu BHI agar additionné de 6 $\mu\text{g/mL}$ de vancomycine. Rechercher la mobilité et la production de pigment afin de distinguer les espèces qui ont acquis des résistances (ex : <i>vanA</i> et <i>vanB</i>) de celles qui ont un niveau de résistance intrinsèque intermédiaire à la vancomycine (ex : <i>vanC</i>) comme <i>E. gallinarum</i> et <i>E. casseliflavus</i> . A l'opposé des autres entérocoques, <i>E. gallinarum</i> et <i>E. casseliflavus</i> (CMI entre 8-16 $\mu\text{g/mL}$) diffèrent des autres entérocoques résistants à la vancomycine sur le plan contrôle de l'infection (pas de risque d'épidémie).
Contrôle de qualité (en routine)	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 (sensible)	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 (sensible)
Contrôle de qualité (nouveaux lots de milieux ou d'antibiotiques)	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 (résistant)	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299 (résistant)

Abréviations: CMI (concentration minimale inhibitrice), BHI (Brain heart infusion), MF (McFarland), ATCC (American type culture collection).

* Tableau extrait du document CLSI M100, 35th ed. 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

IV. Détection d'*Haemophilus* spp. de sensibilité diminuée aux β -lactamines

Chez *Haemophilus influenzae*, le mécanisme essentiel de la résistance aux β -lactamines est enzymatique par production de β -lactamase.

H. influenzae type b est de moins en moins isolé depuis l'instauration de la vaccination anti-*H.influenzae* b en 2008.

Il existe un autre mécanisme de résistance vis-à-vis des β -lactamines. Il s'agit d'un mécanisme non enzymatique reposant sur une modification de la cible des β -lactamines, les PLP ou protéines de liaison à la pénicilline. Ces souches sont appelées BLNAR (β -lactamase Negative Ampicillin Resistant).

Ce dernier mécanisme, pas toujours recherché, est surtout observé chez les souches non typables et confère une résistance de bas niveau aux β -lactamines (CMI de l'ampicilline \geq 1mg/l) souvent non décelable à l'antibiogramme standard.

Technique :

- Certaines de ces souches poussant faiblement sur milieu HTM, une gélose chocolat + polyvitex est utilisée pour tester les β -lactamines.
- Inoculum: 0,5 MF dilué au 1/10.
- Les antibiotiques à tester: ampicilline (2 μ g), céfalotine (30 μ g), amoxicilline (25 μ g) et amoxicilline+acide clavulanique (20/10 μ g).
- Les souches de référence : *H.influenzae* ATCC 49766 (sensible) et *H.influenzae* ATCC 49247 (BLNAR) doit être testées dans les mêmes conditions.

Lecture :

- Elle se fera de manière interprétative en comparant les résultats de la souche à tester avec ceux de la souche de référence.
- Les souches BLNAR présenteront un diamètre diminué autour des disques d'ampicilline (2 μ g) et céfalotine (30 μ g) même si elles restent sensibles à l'amoxicilline et dans ce cas répondre: souche de sensibilité diminuée aux β -lactamines et déterminer la CMI de l'ampicilline par la méthode du E-test sur milieu HTM.

NB: Les deux mécanismes (production de β -lactamase et BLNAR) peuvent être associés, il faut donc systématiquement rechercher la production de β -lactamase.

Références bibliographiques

- 1- CLSI. *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria*. 3rd ed. CLSI guideline M45. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019
- 2 – P. Courvalin et R. Leclercq. *Antibiogramme*. 3^{ème} Edition ESKA.Paris 2012.
- 3 – The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019.<http://www.eucast.org>

Contrôle de qualité de l'antibiogramme

5.1. Objectifs

Le contrôle de qualité permet de garantir :

- La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité.
- La performance des réactifs utilisés dans les tests.
- La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture.

Afin de se conformer à ces exigences, plusieurs souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) peuvent être utilisées (tableau 33) :

5.2. Procédure de contrôle

- Le contrôle de qualité doit se faire **à chaque nouveau lot de Mueller Hinton et/ou d'antibiotiques et pour chaque nouvelle molécule introduite**. Ce travail de contrôle doit être permanent.

Il est conseillé de désigner dans chaque laboratoire une personne chargée de la supervision du contrôle de qualité.

Une traçabilité des disques antibiotiques doit être réalisée à l'aide des numéros de lot.

- Les souches de référence devant être obligatoirement testées sont :
 - *E. coli* ATCC 25922
 - *S. aureus* ATCC 25923
 - *P. aeruginosa* ATCC 27853
 - *S. pneumoniae* ATCC 49619
 - *H. influenzae* ATCC 49247

Tableau 33: Caractéristiques des souches de référence

Souche de référence pour le contrôle de qualité	Caractéristiques
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Absence de β -lactamase
<i>E. coli</i> ATCC 35218	Heberge un plasmide codant pour TEM-1 β -lactamase (non BLSE)
<i>E. coli</i> NCTC 13846	Souche résiste à la colistine hebergeant le plasmide codant pour MCR-1
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	Contient BLSE SHV-18
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	AmpC Inductible
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Absence de β -lactamase Absence de <i>mecA</i> Extrême sensibilité à la majorité des ATB en CMI
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	Absence de <i>mecA</i> Faible production de β -Lactamase
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	Oxacilline résistant, <i>mecA</i> positif
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	Résistance intermédiaire à la pénicilline par altération des PBP
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	Permet de détecter une concentration trop élevée en thymidine, se traduisant par une réduction des diamètres d'inhibition autour des disques de sulfamides et triméthoprine.
<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	BLNAR
<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 49226	CMRNG
<i>S. aureus</i> ATCC 43866	Oxacilline résistant

Abréviations: BLNAR (β -lactamase negative ampicillin resistant), CMRNG (chromosome mediated resistant *N. gonorrhoeae*), ATB (antibiotique), CMI (concentration minimale inhibitrice), ATCC (American Type Culture Collection), NCTC (National Collection of Type Cultures)

- Une fois par semaine, ces souches seront testées, dans les mêmes conditions opératoires que celles décrites pour les bactéries isolées.

Toutefois, d'autres souches de référence peuvent être intégrées dans le système de contrôle, leur choix est laissé à l'appréciation du microbiologiste et doit tenir compte du type d'antibiogramme pratiqué.

- Faire une analyse mensuelle (analyse pouvant être faite par le logiciel Whonet), de l'ensemble des tests de contrôle de qualité, par molécule et par technicien. Si les résultats ne sont pas satisfaisants, il faudra contrôler chacun des paramètres suivants :

1. la lecture et l'interprétation des diamètres des zones d'inhibition
2. le milieu de culture
3. l'inoculum
4. les disques d'antibiotiques
5. les souches de référence

- Le contrôle de qualité doit être pratiqué par tous les techniciens et jamais par un seul.

5.2.1 Lecture et interprétation

- La lecture de l'antibiogramme doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse. Elle doit être précise :

- pour éviter au maximum les erreurs de parallaxe, maintenir l'instrument de mesure perpendiculairement à l'axe optique.
- pour les MH supplémentés en sang, la lecture des diamètres se fait à l'intérieur des boîtes sans toucher la gélose.
- pour les MH non supplémentés, la lecture se fait à l'extérieur de la boîte.
- Il faut vérifier que les interprétations (S, I, R) correspondent bien aux diamètres mesurés.
- Les mesures des diamètres d'inhibition seront soigneusement prises, et comparées aux valeurs critiques figurant dans la **table de lecture 15**
- Il faut éviter les confusions entre les différentes tables de lecture.
- **Les deux principales causes d'erreur sont: mauvais ensemencement (stries non serrées) et mauvaise mesure des diamètres.**

5.2.2. Contrôle du milieu

.. pH

- Doit être de 7,2 à 7,4. Il faut le contrôler pour chaque nouveau lot de MH, à l'aide d'un pH-mètre, en effet toute variation de pH affecte l'activité des aminosides, des macrolides et des phénicolés.
- Plonger l'électrode dans un flacon de MH, semi liquide (**faire attention, car il y a un risque d'éclatement de l'électrode si la température est trop élevée**), la gélose doit se solidifier autour de l'extrémité de l'électrode : mesurer le pH.

.. Préparation des boîtes

- Couler le milieu MH sur des boîtes posées au préalable sur un plan de travail strictement horizontal afin de permettre une répartition homogène du MH de 04 mm d'épaisseur.

.. Humidité

Les boîtes doivent être convenablement séchées avant l'ensemencement.

.. Concentration en thymidine ou thymine

- Une concentration trop élevée en thymidine, entraîne une réduction des diamètres d'inhibition autour des disques de sulfamides et triméthoprime.
Lire la ligne de croissance la plus visible.
- Pour cela, il faut tester le milieu MH avec la souche de référence ***E. faecalis* ATCC 29212**, un diamètre d'inhibition ≥ 20 mm doit être observé autour du disque de triméthoprime+sulfaméthoxazole.

.. Concentration en cations divalents

- Une concentration trop élevée en ions divalents (principalement : Ca^{2+} et Mg^{2+}) entraîne une diminution des zones d'inhibition pour les aminosides (testés pour *P. aeruginosa*), alors que de faibles concentrations donnent des zones d'inhibition trop grandes.
- Les ions Zn^{2+} influencent l'activité des carbapénèmes.
- Ces concentrations doivent être de:

Calcium -----	50 - 100 mg/l
Magnésium -----	20 - 35 mg/l

5.2.3. Contrôle de l'inoculum

- Préparer l'étalon 0,5 McFarland, en versant 0,5 ml d'une solution de BaCl₂ dihydraté à 1% (10 g /l), dans une éprouvette de 100 ml. Compléter à 100 ml avec du H₂SO₄ à 1% (10 ml /l). Ainsi préparé, il doit avoir une D.O. de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm.
- Aliquoter la solution en volumes de 10 ml, dans des tubes identiques à ceux qui serviront à la préparation des inoculums (le nombre d'aliquots sera fonction du nombre de manipulateurs).
- Sceller ces tubes de façon à éviter toute évaporation (parafilm, ruban adhésif, ..).
- Repérer le niveau du liquide à l'aide d'un marqueur, et le contrôler régulièrement en prenant la densité optique.
- Conserver les tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière (papier aluminium).
- Homogénéiser le tube étalon avant de le comparer à l'inoculum préparé : inoculum et étalon doivent avoir la même turbidité lorsqu'ils sont examinés sur un fond rayé.
- Privilégier l'utilisation des densitomètres.

5.2.4. Disques d'antibiotiques

Il existe 03 normes servant à la production de disques imprégnés d'antibiotiques :

- normes DIN (Deutscher Institut für Normung (90-125 %)
- normes WHO (World Health Organisation) (75-135 %)
- normes FDA (Food and Drug Administration (67-150 %)

Les pourcentages cités ci-dessus correspondent aux écarts tolérés sur le disque par rapport à la charge indiquée pour l'antibiotique en question.

- Avant d'utiliser toute cartouche d'antibiotique, il faut vérifier la date de péremption, surtout pour les β-lactamines, ainsi que la charge des disques.
- Le stock de cartouches d'antibiotiques doit être conservé à -20°C, les cartouches dans leurs étuis correctement rebouchés. Les applicateurs, munis de cartouches d'antibiotiques sont conservés à +4°C.
- Tout disque mouillé, ou ayant été directement au contact de la glace, ou bien encore conservé à température ambiante ne devrait pas être utilisé.
- Les cartouches doivent être retirées du congélateur 1 à 2 heures avant leur utilisation.

5.2.5. Souches de référence

- Dès leur réception, les souches de référence doivent être isolées sur milieu adéquat, une gélose nutritive ordinaire suffit pour les bactéries non exigeantes (voir tableau ci-après).
- A partir de cette culture faire 12 congélations à - 80 ou - 70°C.
- Chaque mois sortir un tube de congélation de chaque souche qui sera testée.
- Gratter la souche à l'aide d'un écouvillon sans la décongeler.
- Refaire 12 congélations pour l'année suivante à partir du 12^{ème} tube de conservation.
- Les valeurs critiques des souches de référence pour les antibiotiques testés sont reportées sur les tables de lecture n°15 .

Mode de conservation	Observations
- Lyophilisation	- Conservation à long terme
- Congélation à -80°C	- Conservation à long terme
- Gélose profonde	- Repiquage régulier des souches.

- A défaut de congélateur ou de lyophilisateur, on peut ensemencer une GSC inclinée ; l'incuber 24 h, puis la conserver à -20°C . Cette technique permet de conserver le pneumocoque jusqu'à 6 mois.

5.2.6. Rythme de contrôle (figure)

Le protocole se déroule à raison de 3 tests (test de diffusion et CMI) par jour pendant 5 jours consécutifs (15 tests au total).

La souche de référence est testée avec un inoculum de 0,5 McFarland, les 3 suspensions bactériennes sont préparées séparément à partir d'une même souche ATCC et par 3 manipulateurs différents selon le schéma ci-après :

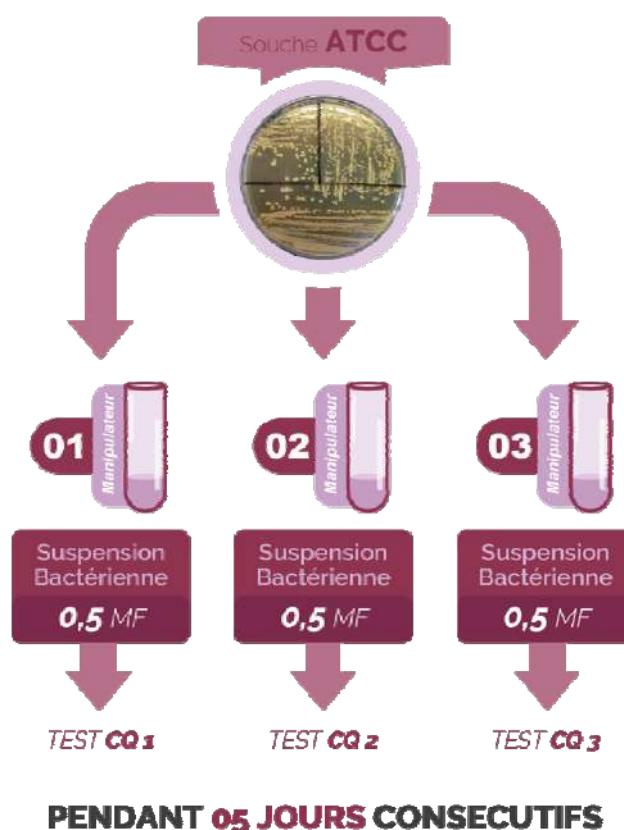


Figure 21 : Rythme du contrôle de qualité.

Les critères d'acceptation du CQ sont résumés dans le tableau suivant (test de diffusion et CMI):

Nombre de tests initiaux incorrects basés sur 15 tests	Conclusions après les tests initiaux basés sur 15 tests	Nombre de tests incorrects après répétition des 15 tests (basés sur le total de 30 tests)	Conclusion après la répétition des 30 tests
0 - 1	Protocole mis en place correct, passer à un rythme hebdomadaire	Non applicable	Non applicable
2 - 3	Tester une autre série de 3x5 (rythme quotidien)	2 - 3	Protocole mis en place correct, passer à un rythme hebdomadaire
4 ou plus	Protocole mis en place incorrect, apporter les actions correctrices nécessaires (* et **) et continuer à tester quotidiennement.	4 ou plus	Protocole mis en place incorrect, apporter les actions correctrices nécessaires (* et **) et continuer à tester quotidiennement.

Extrait du document M100-29th ed. January 2019. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.

* Une erreur évidente

- Souche de référence inappropriée avec le test CQ.
- Conditions d'incubation mauvaises ou inadéquates.

** Investigations plus approfondies

Vérifier toutes les procédures mises en place :

- la souche de référence n'a pas été changée et n'est pas contaminée.
- la suspension de l'inoculum est préparée et ajustée correctement à partir d'une culture de 24 h.
- la qualité de l'étalon McFarland, bien l'agiter avant utilisation.
- les milieux de culture et les disques antibiotiques utilisés ne sont pas périmés et sont stockés à la température adéquate.
- la mesure et la transcription des valeurs des diamètres d'inhibition.
- le bon fonctionnement de l'équipement (ex: incubateur).

5.3. Recommandations supplémentaires pour les CQ

5.3.1. Technique de diffusion des disques

Ce tableau résume les fréquences de CQ recommandées lorsqu'on introduit des modifications des paramètres liés à la pratique et à la lecture de l'antibiogramme au laboratoire, ceci est valable uniquement pour les antibiotiques pour lesquels des résultats satisfaisants ont été obtenus suite aux protocoles des 15 tests (3x5 jours). Sinon un test CQ est nécessaire quotidiennement.

Tableau 34 *: Rythme de réalisation des CQ par la méthode de diffusion des disques

	Fréquence des CQ recommandée			
Modifications apportées aux tests de CQ	01 jour	05 jours	Procédure des 15 tests (3x5 jours)	observations
Disques ATB				
Utilisation d'un nouveau lot	X			
Utilisation d'un nouveau fournisseur	X			
Introduction d'une molécule ATB au système préexistant			X	
Milieu de culture				
Utilisation d'un nouveau lot	X			
Utilisation d'un nouveau fournisseur ou fabricant		X		
Préparation de l'inoculum				
Convertir la préparation de l'inoculum/mise en place et normalisation d'un dispositif qui a son propre CQ.		X		Ex: Passer d'un réglage visuel de la turbidité à l'utilisation d'un dispositif photométrique pour lequel une procédure CQ est prévue.
Convertir la préparation de l'inoculum/ mise en place et normalisation d'une méthode qui dépend de la technique de l'utilisateur.			X	Ex: Passer d'un réglage visuel de la turbidité à une autre méthode qui ne repose pas sur un dispositif photométrique.
Mesure des zones d'inhibition				
Changement de méthode de mesure des zones d'inhibition			X	Ex: Passer de la méthode de lecture manuelle au lecteur automate de zone d'inhibition en tenant compte également des tests de contrôle internes.
Equipement /logiciel (ex: lecteur automate de zone)				
Mise à jour des logiciels qui affecte les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques		X		Surveillance de toutes les molécules ATB, pas seulement celles impliquées dans la modification des logiciels.
Réparation d'un équipement qui affecte les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques	X			En fonction de la durée de la réparation (ex : réparation d'un élément essentiel tel que le dispositif de photographie), un test additionnel peut être approprié (ex: 05 jours).

Abréviations: CQ (contrôle de qualité), ATB (antibiotique).

* Tableau extrait du document M100, 29th ed. 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

Tableau 35 *: Indicateurs pour la résolution des contraintes liées à la mise en place des tests CQ par la méthode de diffusion

Ce tableau fournit des conseils pour les mesures correctives à apporter lorsque les tests CQ sont en dehors des valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition, principalement en utilisant des tests de sensibilité aux antibiotiques avec MHA.

Les tests de CQ de départ doivent d'abord être répétés. Si le problème n'est pas résolu, ce guide de dépannage doit être consulté. En outre, si le problème persiste, les fabricants doivent être informés des problèmes potentiels.

Antibiotique	Souche CQ	Résultat observé	Cause probable	Commentaires/ Action à entreprendre
Aminoglycosides	Toutes	Zone d'inhibition trop petite	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4 Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Aminoglycosides	Toutes	Zone d'inhibition trop grande	pH du milieu de culture trop élevé	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Aminoglycosides	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	Zone d'inhibition trop petite	Concentration en Ca++ et /ou Mg++ trop élevée	Utiliser un autre lot de milieu de culture.
Aminoglycosides	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	Zone d'inhibition trop grande	Concentration en Ca++ et /ou Mg++ trop basse	Utiliser un autre lot de milieu de culture.
Amoxicilline+acide clavulanique	<i>E.coli</i> ATCC 35218	Zone d'inhibition trop petite	L'acide clavulanique est labile, le disque a perdu sa charge.	Utiliser un autre lot de disques. Examiner les conditions de stockage et l'intégrité de l'emballage.
Ampicilline	<i>E.coli</i> ATCC 35218	Zone d'inhibition trop grande (elle doit être résistante)	Perte spontanée du plasmide codant pour la β -lactamase.	Se référer aux recommandations pour l'entretien des souches CQ.
Groupe des β - lactamines	Toutes	Zone d'inhibition initialement acceptable mais qui diminue au fur et à mesure de l'utilisation.	Le disque a perdu sa charge.	Utiliser un autre lot de disques. Examiner les conditions de stockage et l'intégrité de l'emballage. Impipénème, acide clavulanique et céfclor sont particulièrement labiles.
Aztréonam/céfotaxime Ceftazidime/céftriaxone	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 70063	Zone d'inhibition trop grande	Perte spontanée du plasmide codant pour la β -lactamase	Se référer aux recommandations pour l'entretien des souches CQ.
Céfotaxime+acide clavulanique/Ceftazidime+acide clavulanique	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 70063	Test BLSE négatif	Perte spontanée du plasmide codant pour la β -lactamase	Se référer aux recommandations pour l'entretien des souches CQ.
Pénicillines	Toutes	Zone d'inhibition trop grande	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Pénicillines	Toutes	Zone d'inhibition trop petite	pH du milieu de culture trop élevé	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Ticarcilline+acide clavulanique	<i>E.coli</i> ATCC 35218	Zone d'inhibition trop petite	Acide clavulanique est labile, le disque a perdu sa charge.	Utiliser un autre lot de disques. Examiner les conditions de stockage et l'intégrité de l'emballage.
Clindamycine	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	Zone d'inhibition trop petite	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4 Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Clindamycine	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	Zone d'inhibition trop grande	pH du milieu de culture trop élevé	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Macrolides	<i>S.aureus</i>	Zone d'inhibition	pH du milieu de	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4

	ATCC 25923	trop petite	culture trop bas	Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Macrolides	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	Zone d'inhibition trop grande	pH du milieu de culture trop haut	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Quinolones	Toutes	Zone d'inhibition trop petite	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4 Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Quinolones	Toutes	Zone d'inhibition trop grande	pH du milieu de culture trop élevé	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Tétracyclines	Toutes	Zone d'inhibition trop grande	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4 Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Tétracyclines	Toutes	Zone d'inhibition trop petite	pH du milieu de culture trop élevé	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Tétracyclines	Toutes	Zone d'inhibition trop petite	Concentration en Ca++ et /ou Mg++ trop élevée	Utiliser un autre lot de milieu de culture.
Tétracyclines	Toutes	Zone d'inhibition trop grande	Concentration en Ca++ et /ou Mg++ trop basse	Utiliser un autre lot de milieu de culture.
Trimethoprim+ sulfamethoxazole	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	Zone d'inhibition : ≤ 20mm	Milieu trop riche en thymidine	Utiliser un autre lot de milieu de culture.
Tous les antibiotiques				
Divers	Divers	Zone d'inhibition trop petite	Contamination Utiliser grossissement pour lire les zones d'inhibition.	Mesurer la limite de la zone de croissance visible à l'œil nu. Effectuer des repiquages pour déterminer la pureté et répéter si nécessaire.
Divers	Toutes	Plusieurs zones d'inhibition trop grandes	Inoculum trop faible Erreur dans la préparation de l'inoculum Gélose peu épaisse (<4mm) MHA non conforme en nutriments	Répéter en utilisant étalon standard McFarland de turbidité 0,5. Vérifier la date d'expiration et le stockage approprié si utilisation des étalons de sulfate de baryum. Utiliser de l'agar avec une épaisseur de 4 mm. Revérifier plusieurs lots de MHA.
Divers	Toutes	Plusieurs zones d'inhibition trop petites	Inoculum trop chargé Erreur dans la préparation de l'inoculum Gélose trop épaisse (>4mm) MHA non conforme en nutriments	Répéter en utilisant étalon standard McFarland de turbidité 0,5. Vérifier la date d'expiration et le stockage approprié si utilisation des étalons de sulfate de baryum Utiliser de l'agar avec une épaisseur de 4 mm. Revérifier plusieurs lots de MHA.
Divers	Toutes	Une ou plusieurs zones d'inhibition trop petites ou trop grandes	Erreur de mesure. Erreur de transcription Disque défectueux aléatoire Disque non pressé fermement sur la gélose	Revérifier la lecture et la transcription des résultats. Refaire. Si les résultats du nouveau test sont en dehors des limites et qu'aucune erreur n'est détectée, initier des actions correctives.
Divers	divers	Zone d'inhibition trop grande	La zone de faible croissance n'a pas été incluse dans la mesure de la zone (Ex: zone double, bord de la zone floue).	Mesurer le bord de la zone avec la croissance visible détectée à l'œil nu.
Divers	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619	Zones d'inhibition trop grandes	Inoculum prélevé à partir d'une culture	Faire une subculture de la souche CQ et refaire le test CQ ou refaire le

		Zones de croissance limitée dans la boîte.	trop ancienne et contient trop de bactéries non viables (utiliser une culture de 18-20 heures pour préparer l'inoculum).	test à partir d'une nouvelle souche à partir du stock de souches CQ.
Divers	Toutes	Une souche CQ est en dehors des valeurs limites mais d'autres (s) souche(s) CQ pour d'autre(s) espèce(s) sont à l'intérieur des valeurs limites pour le même antibiotique	Il y a une souche CQ qui a permis de détecter le problème	Retester cette souche pour confirmer la reproductibilité des résultats. Evaluer avec des souches ayant des CMI connues. Apporter les actions correctrices nécessaires (*et **).
Divers	Toutes	02 souches CQ sont en dehors des valeurs limites vis à vis du même antibiotique.	Le problème se situe au niveau du disque.	Utiliser un autre lot de disques. Examiner les conditions de stockage et l'intégrité de l'emballage.
Divers	Toutes	Les zones d'inhibition se chevauchent.	Trop de disques dans la boîte d'antibiogramme.	Pas plus de 12 disques sur une boîte de 150 mm et 5 disques pour 100 mm, pour certaines bactéries exigeantes qui produisent de grandes zones, utiliser moins de disques.

Abréviations : MHA (Mueller-Hinton agar), CQ (contrôle de qualité), ATCC (American Type Culture Collection), BLSE (β -lactamase à spectre étendu), CMI (concentration minimale inhibitrice).

* Tableau extrait du document M100, 29th ed. 2019 . Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

5.3.2. Technique de la CMI

Tableau 36*: Rythme de réalisation des CQ par la méthode de la CMI

	Fréquence des CQ recommandée			
Modifications apportées aux tests de CQ	01 jour	05 jours	Procédure des 15 tests (3x5jours)	Observations
Tests de CMI				
Utilisation d'un nouveau lot	X			
Développer la gamme de dilution	X			Ex : Réaliser à partir de break point une gamme de dilution plus étendue.
Réduire la gamme de dilution	X			Ex : Limiter la gamme de dilution en fonction de la valeur des break points.
Utilisation d'une nouvelle méthode (même firme).			X	Ex: Convertir une lecture visuelle à une lecture instrumentale.
Utilisation d'un nouveau fournisseur ou fabricant de tests CMI			X	Effectuer en parallèle des vérifications par les tests maison.
Utilisation d'un nouveau fournisseur ou fabricant de milieu liquide ou gélosé		X		
En cas d'incorporation d'un nouvel antibiotique au système préexistant			X	
Préparation de l'inoculum				
Changer le mode de préparation de l'inoculum pour mettre en place une méthode qui a son propre protocole CQ.		X		Ex: Passer d'un réglage visuel de la turbidité à une lecture par méthode photométrique prévue obligatoirement pour ce protocole CQ.
Changer le mode de préparation de l'inoculum pour standardiser une méthode qui dépend du manipulateur.			X	Ex: Passer d'un réglage visuel de la turbidité à une lecture autre et qui n'est pas basée sur une méthode photométrique.
Equipement /logiciel (ex: lecteur automate de zone)				
Mise à jour des logiciels qui affecte les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques.		X		Surveillance de toutes les molécules ATB, pas seulement celles impliquées dans la modification des logiciels.
Réparation d'un équipement qui affecte les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques.	X			En fonction de la durée de la réparation (ex : réparation d'un élément essentiel tel que le dispositif de photographie), un test additionnel peut être approprié (ex : 05 jours).

Abréviations : CQ (contrôle de qualité), CMI (concentration minimale inhibitrice).

* Tableau extrait du document M100, 29th ed. 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

- Bandelettes E-test:**Tableau 37 : Conservation et utilisation des bandelettes E-test**

Conditionnement	Température de stockage	Délai de temps à température ambiante avant utilisation
30 et 100 bandelettes	-20°C	Au moins 30 minutes
30 bandelettes	De (-18 à -20°C) à (4 à 8°C)	15 minutes
Cartouche E-test individuelle	De 4 à 8 °C	15 minutes

- De plus, il faudra, à la réception de chaque nouveau lot de bandelettes E-test, faire des tests de contrôle de qualité en utilisant les souches de référence sensibles afin de vérifier la compatibilité des bandelettes E-test avec le milieu Mueller Hinton préexistant au laboratoire.
- Et veiller à éviter l'humidité en utilisant des dessicants.

Tableau 38* : Indicateurs pour la résolution des contraintes liées à la mise en place des tests CQ par technique de CMI

Les tests de CQ non conformes sont souvent le résultat d'une contamination ou de l'utilisation d'une souche CQ incorrecte. Si le problème n'est pas résolu, ce tableau propose des suggestions supplémentaires pour la résolution des contraintes liées à la mise en place des tests de CQ par technique de CMI.

Antibiotique	Souche CQ	Observation	Cause probable	Commentaire / Action à entreprendre
Aminoglycosides	Toutes	CMI trop élevée	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2 - 7,4 Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH
Aminoglycosides	Toutes	CMI trop basse	pH du milieu de culture trop élevé	Ecart de pH acceptable : 7,2 - 7,4
Aminoglycosides	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	CMI trop élevée	Concentration en Ca ⁺⁺ et /ou Mg ⁺⁺ trop élevée	Ecart acceptable : Ca ⁺⁺ 20-25mg/L et Mg ⁺⁺ 10-12,5mg/L
Aminoglycosides	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	CMI trop basse	Concentration en Ca ⁺⁺ et /ou Mg ⁺⁺ trop faible	Ecart acceptable : Ca ⁺⁺ 20-25mg/L et Mg ⁺⁺ 10-12,5mg/L
Groupe des β-lactamines	Toutes	CMI est initialement conforme, mais augmente éventuellement et devient non conforme avec le temps.	Impénème, céfclor et l'acide clavulanique sont particulièrement labiles L'antibiotique se dégrade	Utiliser un autre lot. Examiner les conditions de stockage et l'intégrité de l'emballage. Impénème, céfclor et acide clavulanique sont particulièrement labiles.
Aztréonam Céfotaxime Ceftazidime	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603	CMI trop basse	Perte spontanée du plasmide codant pour la β-lactamase	Se référer aux recommandations pour l'entretien des souches CQ.
Carbapénèmes	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	CMI trop élevée	Concentration en Zn ⁺⁺ trop élevée	Utiliser un autre lot.
Carbapénèmes	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	CMI trop élevée	L'antibiotique se dégrade.	Utiliser un autre lot. Examiner les conditions de stockage et l'intégrité de l'emballage. Des résultats répétés de CQ impénème à la limite supérieure de l'intervalle CQ avec <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 peuvent indiquer une détérioration de l'ATB.
Pénicilline	<i>S.aureus</i> ATCC29213	CMI trop élevée	Cette souche CQ est un producteur de β-lactamase, un repiquage excessif peut entraîner une augmentation des CMI.	Répétez avec un inoculum soigneusement ajusté.
Pénicillines	Toutes	CMI trop basse	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2 - 7,4

				Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Pénicillines	Toutes	CMI trop élevée	pH du milieu de culture trop haut	Ecart de pH acceptable : 7,2 - 7,4
Clindamycine	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212 <i>S.aureus</i> ATCC29213	CMI trop élevée	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable : 7,2 - 7,4 Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Clindamycine	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212 <i>S.aureus</i> ATCC 29213	CMI trop basse	pH du milieu de culture trop haut	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Quinolones	Toutes	CMI trop élevée	pH du milieu de culture trop bas	Ecart de pH acceptable=7,2-7,4 Eviter l'incubation sous CO ₂ , ce qui abaisse le pH.
Quinolones	Toutes	CMI trop basse	pH du milieu de culture trop haut	Ecart de pH acceptable : 7,2-7,4
Tous les antibiotiques				
Divers	Toutes	Un résultat de CQ non conforme est observé, mais l'antibiotique n'est pas destiné à être reporté sur les résultats destinés au patient (Ex: pas sur le formulaire de l'hôpital)		Puisque l'antibiotique n'est pas destiné à être reporté, aucune répétition n'est nécessaire si des contrôles adéquats sont en place.
Divers	Toutes	Beaucoup de CMI trop basses	Inoculum trop faible; erreur dans la préparation de l'inoculum	Répéter en utilisant étalon standard Mc Farland de turbidité 0,5 Vérifiez la date d'expiration et le stockage approprié si vous utilisez des étalons de sulfate de baryum. Vérifier les étapes de la préparation de l'inoculum et de la procédure d'inoculation. Effectuer un contrôle du nombre de colonies après le contrôle de la croissance, immédiatement après l'inoculation et avant l'inoculation. Effectuer le comptage du nombre de colonies immédiatement après l'inoculation et avant l'inoculation (<i>E. coli</i> ATCC 25922 se rapproche de 5 x 10 ⁵ UFC / ml).
Divers	Toutes	Beaucoup de CMI trop basses ou trop élevées	MHLAC n'est pas optimal.	Reprendre un autre lot.
Divers	Toutes	Plusieurs CMI trop élevées	Inoculum trop chargé	Répéter en utilisant étalon standard Mc Farland de turbidité 0,5. Vérifier la date d'expiration et le stockage approprié si des étalons de sulfate de baryum sont utilisés. Vérifier les étapes de la préparation de l'inoculum et de la procédure d'inoculation. Effectuer un contrôle du nombre de colonies après le contrôle de la croissance, immédiatement après l'inoculation et avant l'inoculation. Effectuer le comptage du nombre de colonies immédiatement après l'inoculation et avant l'inoculation (<i>E. coli</i> ATCC 25922 se rapproche de 5 x 10 ⁵ UFC / ml).
Divers	Toutes	Puits sautés	Contamination. Inoculation inadéquate. Préparation inadéquate de	Refaire le test CQ.

			l'inoculum. Concentration réelle de l'ATB dans les puits imprécise. Volume de bouillon dans les puits imprécis	Reprendre un autre lot.
Divers	Toutes	Plusieurs CMI trop élevées ou trop basses	Possibilité d'erreur de lecture et /ou transcription.	Revérifier les lectures. Utiliser des lots alternatifs.
Divers	Toutes	Une souche CQ est non conforme, par contre les autres souches sont conformes avec le même antibiotique.	Une souche CQ peut être un meilleur indicateur en particulier pour détecter un problème de contrôle de qualité (ex: <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 est un meilleur indicateur pour détecter une détérioration de l'imipénème que <i>E. coli</i> ATCC 25922).	Evaluer avec des souches alternatives ayant des CMI connues. Initier une action corrective vis-à-vis de ce problème souche CQ / antibiotique.
Divers	Toutes	Deux souches CQ sont non conformes avec le même antibiotique.	Le problème se situe au niveau de l'antibiotique en question.	Apporter une action corrective.
Divers	Toutes	Un résultat de CQ non conforme est observé, mais l'antibiotique n'est pas destiné à être reporté sur les résultats destinés au patient (Ex : pas sur le formulaire de l'hôpital).		Si l'antibiotique n'est pas destiné à être reporté, aucune répétition n'est nécessaire si des contrôles adéquats sont en place. Examiner attentivement les antibiotiques de la même classe pour détecter une tendance similaire à des résultats non conformes. De plus, si l'antibiotique en question est constamment non conforme, contacter le fabricant.
Divers	<i>K.pneumoniae</i> ATCC 700603 <i>E.coli</i> ATCC 35218	CMI trop basse	Perte spontanée du plasmide codant pour la β -lactamase.	Se référer aux recommandations pour l'entretien des souches CQ.

Abréviations : CMI (concentration minimale inhibitrice), CQ (contrôle de qualité), ATCC (American Type Culture Collection), MHLAC (Mueller-Hinton liquide ajusté en cations), UFC (unité formant colonie).

* Tableau extrait du document M100, 29th ed. 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

5.4. Evaluation externe de la qualité

Une évaluation externe de la qualité est instaurée depuis 1999, pour l'ensemble des laboratoires du réseau de surveillance de la résistance aux antibiotiques. Tout microbiologiste désirant participer à ce contrôle, pourra le faire en s'inscrivant au laboratoire de bactériologie médicale et de surveillance de la résistance aux antibiotiques, de l'Institut Pasteur d'Algérie chargé de superviser la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques au niveau national.

Références bibliographiques

- 1- CLSI. *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019
- 2- The European Committee on Antimicrobial Sussceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. <http://www.eucast.org>

Recommandations et suggestions

1- Du matériel et des réactifs

1.1 Disques antibiotiques

- Toute commande de réactifs y compris celle des disques d'antibiotiques doit obligatoirement comprendre : le nom du fournisseur, le code du produit, le nom et la présentation du produit commandé ainsi que la quantité à commander.
- **Vérifier soigneusement si la charge requise correspond bien au code du produit.**
- Vu que nous appliquons les normes CLSI, commander des disques dont les charges correspondent aux charges recommandées par le CLSI.
- Chaque fournisseur de cartouches de disques antibiotiques commercialise également des distributeurs de disques adaptés à ses propres cartouches. Une cartouche d'un fournisseur ne peut s'adapter à un distributeur d'un autre fournisseur, il est important de commander des disques adaptables aux applicateurs..
- Chaque cartouche doit avoir une étiquette sur laquelle sont inscrits : le nom du laboratoire producteur, le N° de code, la charge du disque, le nom de l'antibiotique et la date de péremption. Si le nom du laboratoire producteur ne figure pas sur la cartouche, cela signifie que l'origine du produit est inconnue. Ce type de cartouche existe et ne devrait pas être commercialisé. Les normes à accepter pour les disques antibiotiques, sont les normes DIN, WHO, FDA.
- Le MS ne fait pas encore le contrôle des réactifs comme il le fait pour les médicaments donc certains réactifs non enregistrée peuvent apparaître sur le marché.

Le laboratoire de Bactériologie Médicale et de surveillance de la résistance aux antibiotiques de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) assure l'expertise des disques d'antibiotiques et des milieux pour antibiogrammes mais celle-ci reste à la demande de la tutelle.

Si un produit vous paraît suspect, demandez au fournisseur de vous communiquer l'expertise du laboratoire qui a fourni ce produit.

- Les disques d'antibiotiques devront être transportés et stockés, de préférence à -20°C et distribués en tenant compte des besoins en ces produits ainsi que de leurs dates de validité. Le retard à quelque niveau que ce soit aura des retombées sur le traitement du patient.
- Les applicateurs doivent être stérilisés régulièrement selon les directives du fournisseur ou à l'autoclave durant 15 mn à 120°C ; en outre pour éviter toute contamination de la gélose, obturer par du ruban adhésif les ouvertures vides non chargées de cartouches d'antibiotiques.

1.2 Milieux

- L'antibiogramme et les CMI devront être réalisés obligatoirement en milieu de Mueller-Hinton gélosé ou liquide. Le milieu de Mueller-Hinton est un milieu complexe commercialisé par peu de laboratoires dans le monde. La commande de ce milieu doit tenir compte de la consommation dans le laboratoire pour éviter la pénurie, **car si pénurie il y a, aucun autre milieu ne pourra le remplacer.**
- Concernant le Mueller-Hinton supplémenté au sang défibriné, il faut tenir compte du type de sang recommandé : mouton ou cheval et de la quantité dans le milieu, en général 5%.
- Les mêmes principes s'appliquent au Mueller Hinton liquide.
Il serait souhaitable de commercialiser au niveau de l'IPA les milieux GC supplémenté et HTM destinés respectivement à la réalisation des antibiogrammes de *N.gonorrhoeae* et *Haemophilus* spp., afin d'en garantir une disponibilité continue.
- Les milieux doivent être conditionnés en flacons de 250ml et non de 500ml car difficilement stérilisables.

1.3 Boîtes de Petri

- Les boîtes de Petri stériles doivent être parfaitement conditionnées, il faut être vigilant et éliminer les sachets détériorés suite à un mauvais stockage. Un contrôle de stérilité des boîtes peut s'avérer nécessaire en cas de contamination importante des cultures. Il suffit de remplir les boîtes avec un bouillon permettant la culture de la majorité des germes et ensuite placer la boîte ensemencée à l'étuve.
- Il faut prévoir un quota de boîtes de Petri en verre que l'on utiliserait en cas de pénurie de boîtes en plastique.

1.4 Les souches de référence

- . *E.coli* ATCC 25922
- . *S.aureus* ATCC 25923
- . *P.aeruginosa* ATCC 27853
- . *S.pneumoniae* ATCC 49619
- . *H.influenzae* ATCC 49247

ont été distribuées à tous les membres du réseau. Elles sont disponibles au niveau du laboratoire de bactériologie médicale et de surveillance de la résistance aux antibiotiques de l'Institut Pasteur de Dely Ibrahim. Pour les autres souches de référence, des commandes peuvent être faites auprès de divers fournisseurs.

Pour la conservation des souches exigeantes, le laboratoire doit être doté d'un congélateur à -70°C relié à un groupe électrogène afin de pallier aux coupures de courant.

1.5 Atmosphère enrichie en CO₂

Pour obtenir une atmosphère enrichie en CO₂, une étuve à CO₂ serait l'idéal, mais à défaut, une jarre avec gaspack ou une cloche avec une bougie conviennent également.

1.6 Le pH mètre devra régulièrement être étalonné.

<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

1.7 L'inoculum doit obligatoirement être contrôlé. Il est interdit d'ajuster un inoculum à l'œil nu.

1.8 De la Technique

- Toutes les techniques de standardisation de l'antibiogramme appliquent la théorie des trois fois 15mn :
 - + l'inoculum doit être employé dans les 15 mn qui suivent sa préparation.
 - + le dépôt des disques se fait dans les 15 mn qui suivent l'ensemencement du milieu.
 - + l'incubation des boîtes se fait dans les 15 mn qui suivent le dépôt des disques
 - + les antibiogrammes se préparent un par un. Ne pas tenter de faire plusieurs antibiogrammes en même temps.
- L'identification exacte des germes est aussi importante que la réalisation de l'antibiogramme.
- Certains disques d'antibiotiques doivent être disposés de manière à mettre en évidence certains mécanismes de résistance (ex : céphalosporines de 3^{ème} génération à côté d'un inhibiteur de β -lactamase pour la mise en évidence de la BLSE ; érythromycine à côté d'un disque de clindamycine pour la mise en évidence de la résistance inducible aux macrolides).
- Pour certaines molécules antibiotiques de la nomenclature algérienne, il n'existe pas de valeurs critiques selon les normes CLSI. Dans ces cas là, nous nous sommes donc référés aux valeurs critiques définies par l'EUCAST.

2- Du résultat de l'antibiogramme

- Les antibiotiques testés doivent être classés par familles et leurs noms écrits intégralement sur la feuille de résultat de l'antibiogramme (et non sous forme d'abréviations).
- Les trois catégories de sensibilité aux antimicrobiens doivent être répertoriées en Sensible, Intermédiaire, Résistant et « **JAMAIS "PAR DES CROIX** ».

Les trois catégories de sensibilité aux antimicrobiens sont définies comme suit :

- **Sensible** : l'infection provoquée par la souche testée répondra probablement au traitement par cet antibiotique.
- **Résistant** : l'infection provoquée par la souche testée ne répondra probablement pas au traitement à cet antibiotique.
- **Intermédiaire** : la réponse au traitement est imprévisible.

Suite aux applications de plus en plus importantes des notions de pharmacocinétique et pharmacodynamie ces récentes années, une nouvelle catégorie de classement dans l'interprétation du test de sensibilité aux antibiotiques a été adoptée.

A côté des catégories R, I et S, une 4^{ème} catégorie, appelée **SDD (Susceptible-Dose dépendant)**, a été proposée pour une interprétation basée sur des valeurs critiques dépendantes de la dose d'antibiotique communément administrée au patient.

En effet, avec des doses d'antibiotique plus fortes et/ou plus fréquentes, il y a une exposition plus importante de la souche à l'antibiotique par rapport à l'exposition qui garantit la réponse « S » et qui correspond aux valeurs critiques « sensible ». Sachant qu'une exposition plus importante de la souche à l'antibiotique a une plus forte probabilité de guérison, la catégorie SDD permet de mieux adapter la réponse « S » à la dose administrée. Dans son dernier rapport, le CLSI propose, une liste de régimes thérapeutiques rapportant, par antibiotique, la dose administrée et la CMI critique pour la catégorie « sensible »

- **En cas de BLSE et de carbapénèmases chez les entérobactéries interpréter uniquement en fonction des valeurs critiques. Il est cependant déconseillé de traiter une infection avec une céphalosporine de 3^{ème} génération seule ou même associée avec un aminoside. Ne pas hésiter à faire des CMI lorsqu'un traitement antibiotique est entrepris avec ce type de bactéries.**
- En cas de SARM, ne pas oublier de corriger le résultat initialement classé dans la catégorie Sensible en résultat Résistant. De toute manière tout SARM est résistant à toutes les β -lactamines.
- Il est utile d'inclure un commentaire particulier destiné au clinicien sur la souche isolée et sur sa sensibilité aux antibiotiques.
ex : *S.aureus* résistant à la méticilline : « la souche est résistante à toutes les β -lactamines. »
- Le résultat de l'antibiogramme doit être contrôlé et validé par le responsable du laboratoire avant sa remise au patient (externe) ou au clinicien (patient hospitalisé). Il faut s'assurer en particulier que :
 - ✓ La sensibilité aux antibiotiques concorde avec l'identification de la souche isolée (ex : *Proteus mirabilis* doit en général être résistant à la colistine).
 - ✓ Les résultats au sein d'une classe d'antibiotiques suivent la hiérarchie établie pour les règles d'activité au sein de cette famille d'antibiotiques (ex : les céphalosporines de 3^{ème} génération sont plus actives que celles de 1^{ère} et de 2^{ème} génération sur les entérobactéries).
 - ✓ La souche isolée est sensible aux antibiotiques pour lesquels rares sont les résistances signalées (ex : *S.aureus* et vancomycine, *H.influenzae* et céfotaxime, *N.meningitidis* et ampicilline).
- Tout résultat inhabituel ou discordant doit entraîner une vérification des paramètres suivants :
 - Erreur de transcription des résultats
 - Contamination de la souche bactérienne
 - Contrôle des résistances inhabituelles par la détermination des CMI.

Si la raison des résultats inhabituels n'est pas élucidée, il faudra refaire l'identification de la souche et/ou refaire l'antibiogramme.

Références bibliographiques

- 1- CLSI. *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019
- 2- EUCAST: www.eucast.org [1 janvier. 2018].
- 3- CASFM: www.sfm-microbiologie.org [Recommandations Mai 2019 V2.0]

Annexes

Composition des milieux et préparation de géloses spécifiques

A- Bactéries non exigeantes

❖ Mueller-Hinton Agar

Infusion de viande de boeuf déshydratée -----	300g
Hydrolysate de caséine -----	17,5g
Amidon de maïs -----	1,5g
Agar agar -----	13g
Eau distillée -----	QSP 1000ml
pH final -----	7,2-7,4

B- *Neisseria gonorrhoeae*

❖ Milieu GC

Bacto Proteose Peptone -----	15g
Amidon de maïs -----	1g
Phosphate dipotassique -----	4g
Phosphate monopotassique -----	1g
Chlorure de sodium -----	5g
Agar -----	10g
Eau distillée -----	QSP 1000ml
pH final-----	7,2-7,4

❖ Supplément :

Supplément : 1.1g L-cysteine, 0.03g guanine HCL, 3mg thiamineHCL, 13mg PABA, 0.01g B12, 0.1g cocarboxylase, 0.25g NAD, 1g adenine, 10g L-glutamine, 100 g glucose, 0.02g ferric nitrate [dans 1L H₂O] ajouté après autoclavage.1%

C - *Haemophilus* spp.

❖ Milieu HTM (*Haemophilus* Test Medium)

M H. agar -----	38g/l
-----------------	-------

Supplément:

Hématine Bovine -----	15 mg/l
-----------------------	---------

(Prendre 30ml d'une solution d'hématine bovine à 0,05g/l

Poids/volume) préparée dans du NaOH 0,01 N).

NAD (ou β NAD) -----	15 mg/l
----------------------	---------

(Prendre 3ml d'une solution de NAD à 5g/l (poids/volume) préparée avec de l'eau distillée stérile, ajoutée après stérilisation à l'autoclave).

Extrait de levure ----- 5g/l

Eau distillée -----QSP 1000ml

pH final----- 7,2-7,4

D- Gélose Mueller–Hinton additionnée de 4% NaCl

MH Agar ----- 38g

NaCl ----- 40g

Eau distillée-----QSP 1000ml

E- Bouillon glycérolé pour la congélation des bactéries

Bouillon coeur-cervelle -----QSP 100ml

Glycérol----- 20 ml

Congeler dès ensemencement

F. Préparation du LHB (Lysed Horse Blood) Sang de cheval lysé à 50 % :

- 1- Mélanger stérilement volume à volume du sang de cheval defibriné et de l'eau distillée stérile pour obtenir le LHB à 50%.
- 2- Congeler et décongeler le LHB 50 % afin de lyser complètement les cellules (Procéder à 5 ou 7 cycles de congélation-décongélation).
- 3- Pour l'utilisation dans la réalisation de CMI en milieu liquide, le mélange bouillon – LHB 50% doit être clair. Pour cela, centrifuger le LHB 50 % pendant 20 minutes à 12.000 g, puis récupérer le surnageant. Répéter l'opération si nécessaire.
- 4- Stérilement ajouter la quantité appropriée de Muller-Hinton liquide ajusté en cations pour avoir une concentration finale de LHB de 2.5 à 5%.
- 5- Contrôler le pH après cette opération.
- 6- Le LHB peut être ajouté aux plaques de microdilution soit au moment de la préparation de la gamme d'antibiotique ou après, juste avant l'inoculation. Si on l'ajoute après la préparation de la plaque, le LHB doit être ajouté avec l'inoculum pour éviter toute dilution supplémentaire de l'antibiotique et la concentration finale du LHB dans le puits est comprise entre 2,5% et 5%.
- 7- Le LHB 50% peut être conservé indéfiniment à une température $\leq - 20^{\circ}\text{C}$.

Tableau 39: Liste des solvants pour la préparation des solutions antibiotiques
(Référence : Document CLSI M100 29th ed 2019)

Antibiotique	Solvant	Diluant
Pénicilline	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Amoxicilline	Tampon phosphate pH6,0/ 0,1M	Tampon phosphate pH6,0/ 0,1M
Ampicilline	Tampon phosphate pH8,0/ 0,1M	Tampon phosphate pH6,0/ 0,1M
Oxacilline	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Céfotaxime	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Céftazidime	Carbonate de sodium	Eau distillée stérile
Imipénème	Tampon phosphate pH7,2/ 0,01M	Tampon phosphate pH7,2/ 0,01M
Ertapénème	Tampon phosphate pH7,2/ 0,01M	Tampon phosphate pH7,2/ 0,01M
Erythromycine	95% Ethanol	Eau distillée stérile
Ciprofloxacine	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Chloramphénicol	Ethanol absolu	Eau distillée stérile
Gentamicine	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Amikacine	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Streptomycine	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Tétracycline	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Doxycycline	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Rifampicine	Méthanol	Eau distillée stérile
Colistine sulfate*	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Vancomycine	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Tigecycline	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile

* : Attention, il ne faut pas utiliser de poudre injectable de colistiméthate sodique ou de colistine méthane sulfonate (Prodrogue inactive).

Tables de lecture en médecine humaine

Table de lecture 1* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterobacterales* (*Salmonella/Shigella* exclues)

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxitine (2g toutes les 6h), céfotaxime (1g toutes les 8h). Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux CMI mesurées. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.
Piperacilline+ Tazobactam	100/10µg	≤ 20	21– 24	≥ 25	≥ 32/4	16/4	≤ 8/4	
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Ceftazidime+ Avibactam	30/20 µg	≤ 20	----	≥ 21	≥ 16/4	----	≤ 8/4	
Ceftolozane+ Tazobactam	30/10µg	≤ 18	19– 21	≥ 22	≥ 8/4	4/4	≤ 2/4	
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	----	≥ 15	≥ 32	----	≤ 16	Les résultats de la céfazoline prédisent ceux de : cefaclor, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil, céfuroxime axétil, céfalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>P. mirabilis</i> . Cefpodoxime, céfdinir et cefuroxime axetil peuvent être testés individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes ; 1g toute les 12h.
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Imipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème et Méropénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h. La détection phénotypique d'une carbapénémase est réservée aux études épidémiologiques
Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	
Amikacine	30µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 16	8	≤ 4	
Gentamicine	10µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 21	22 – 25	≥ 26	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire
Colistine**	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤2	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, CBDE (technique d'élution des disques) et CAT (Dilution en milieu gélosé) sont acceptable (voir tests complémentaire). le disque et E-test ne doivent pas être utilisés.
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Pour <i>E.coli</i> isolées d'infections urinaires. CMI : technique de dilution en gélose + 25µg/ml de glucose 6-phosphate.
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/ 23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	

*Tableau extrait du Document CLSI M100. 35th ed. 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. ** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025. Abréviations : PK-PD : Pharmacocinétique – pharmacodynamique. BLSE : β-Lactamase à Spectre Étendu. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

<http://www.pasteur.dz/aarn> aarn@pasteur.dz

Table de lecture 2* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Salmonella/Shigella*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.
Céfotaxime ou Ceftriaxone	30µg	≤ 22 ≤ 19	23 – 25 20 – 22	≥ 26 ≥ 23	≥ 4 ≥ 4	2 2	≤ 1 ≤ 1	Les breakpoints des céphalosporines ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfotaxime (1g toutes les 8h). Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant CMI mesurées. A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière.
Imipénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème et Méropénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h. La détection phénotypique d'une carbapénémase est réservée aux études épidémiologiques
Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	
Ciprofloxacine <i>Salmonella</i> sp	5µg	≤ 20	21 – 30	≥ 31	≥ 1	0,12 - 0,5	≤ 0,06	
Ciprofloxacine <i>Shigella</i> sp	5µg	≤ 21	22 – 25	≥ 26	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Pefloxacin <i>Salmonella</i> sp	5µg	≤ 23		≥ 24				Peut être utilisé pour détecter la résistance à la ciprofloxacine
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire.
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	
Azithromycine	15µg	≤ 12		≥ 13	≥ 32	-----	≤ 16	S.Typhi
Azithromycine	15µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 32	16	≤ 8	Shigella sp

* Tableau extrait du Document CLSI M100. 35th ed. 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

Table de lecture 3* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline + ac. Clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 – 64/2	≤ 16/2	Les breakpoints des céphalosporines ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises, Pipéracilline : 4 g toutes les 6h, Pipéracilline + tazobactam : 4,5 g toutes les 6h, Ticarcilline + ac. Clavulanique : 3 g toutes les 6h, céftazidime et aztréonam : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Détecer une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM.
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 - 21	≥ 22	≥ 64	32	≤ 16	
Pipéracilline + tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 17	18 - 21	≥ 22	≥ 64/4	32/4	≤ 16/4	
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 – 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	
Meropénème	10 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 h ou 500mg toutes les 6 h.
Ceftolozane + tazobactam	30/10µg	≤ 16	17 - 20	≥ 21	≥ 16/4	8/4	≤ 4/4	
Céftazidime+ avibactam	30/20µg	≤ 20	-----	≥ 21	≥ 16/4	-----	≤ 8/4	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 18	19 - 24	≥ 25	≥ 2	1	≤ 0,5	
Lévofloxacine	5µg	≤ 14	15 - 21	≥ 22	≥ 4	2	≤ 1	
Colistine**	CMI	---	-----	---	>4	-----	≤ 4	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, CBDE (technique d'élution des disques) et CAT (Dilution en milieu gélosé) sont acceptable (voir tests complémentaire), le disque et E-test ne doivent pas être utilisés.

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing..

** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025 Abréviations : BLSE : β-Lactamase à Spectre Étendu. TCC : ticarcilline + acide clavulanique. CAZ : céftazidime. ATM: aztréonam. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Table de lecture 4* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Acinetobacter* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
								Le disque de TCC doit être placé à côté du disque de CAZ. Une synergie entre les 2 disques indique la présence d'une BLSE. Les critères d'interprétation pour l'imipénème sont basés sur la posologie de 500mg toutes les 6h.
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	≤ 14	15 - 19	≥ 20	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	
Pipéracilline	100 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 128	32-64	≤ 16	
Pipéracilline + tazobactam	100 µg/10 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 128/4	32/4-64/4	≤ 16/4	
Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 8	4	≤ 2	
Méropénème	10 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 8	4	≤ 2	
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Doxycycline**	30µg	≤ 9	10 – 12	≥ 13	≥ 16	8	≤ 4	
Minocycline	30µg	≤ 17	18 – 21	≥ 22	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	
Tigecycline	(CMI)	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Reporter la valeur de CMI en indiquant : pas de valeurs critiques cliniques.
Colistine***	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤ 2	La détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide est la seule méthode approuvée. Le CBDE, le CAT, le disque et E-test ne doivent pas être utilisés.

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing , **Tableau extrait du Document CLSI M100 . 34th ed . 2024. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing..*** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025

Abréviations : BLSE : β-Lactamase à Spectre Étendu. TCC : ticarcilline + acide clavulanique. CAZ : ceftazidime. CMI : concentration Minimale Inhibitrice.

Table de lecture 5* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Stenotrophomonas maltophilia*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarilline + ac.clavulanique	CMI	---	---	---	≥ 128/2	32/2-64/2	≤ 16/2	
Minocycline	30 µg	≤ 20	21 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	Réponse d'interprétation valable pour la tétracycline et la doxycycline
Lévofloxacine	5 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	
Chloramphénicol	CMI	-----	-----	-----	≥ 32	16	≤ 8	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire.

*Tableau extrait du Document CLSI M100. 35th ed. **2025**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

Table de lecture 6* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥ 29	≥ 0,25	-----	≤ 0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux. Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, piperacilline....).
Oxacilline (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	CMI	-----	-----	-----	≥ 4	-----	≤ 2	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (<i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	30 µg	≤ 21	---	≥ 22	≥ 8	-----	≤ 4	
Oxacilline (<i>Staphylococcus</i> spp.sauf <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i>)	CMI	-----	---	-----	≥ 1	-----	≤ 0,5	
Céfoxitine (<i>Staphylococcus</i> spp. sauf <i>S.aureus</i>, <i>S.lugdunensis</i>, <i>S. pseudintermedius</i>, <i>S. schleiferi</i> et <i>S.coagulans</i>)	30 µg	≤ 24	---	≥ 25	---	-----	---	
Ceftaroline	30µg	≤ 19	20 – 24 SDD	≥ 25	≥ 8	2-4 SDD	≤ 1	SDD : Souches sensibles dose dependantes, la sensibilité depend de la posologie.
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine. **
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à l'érythromycine et à la clindamycine ».
Clindamycine	2µg	≤ 14	15 – 20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0,5	
Vancomycine (<i>S. aureus</i>)	CMI	---	---	-----	≥ 16	4 - 8	≤ 2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vancomycine « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vancomycine « S », « I » et « R » de <i>S.C.N.</i> , car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de la vancomycine est obligatoire. Se référer au chapitre recherches complémentaires
Vancomycine (SOSA)	CMI	---	---	---	≥ 32	8 - 16	≤ 4	
Teicoplanine	CMI	---	---	---	≥ 32	16	≤ 8	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38	
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Tétracycline	30µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-dalfopristine	15µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> méticillino-sensibles. Les souches résistantes à la quinupristine-dalfopristine sont reportées à la pristinaamycine.
Linezolid	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 8	-----	≤ 4	
Acide fusidique**	10 µg	< 24	-----	≥ 24	> 1		≤ 1	
Fosfomycine IV**	200 µg	< 23	-----	≥ 23	> 32		≤ 32	La méthode de référence pour la détermination de la CMI est la dilution en milieu gélosé en présence de glucose-6phosphate (25 mg/l)

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025. Abreviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.IV :Intra veineuse, SOSA : *Staphylococcus Other than S. aureus*

Table de lecture 7* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤16	---	≥ 17	≥ 16	-----	≤ 8	Interprétation valable pour amoxicilline. Les résultats des tests de sensibilité à l'ampicilline doivent être utilisés pour prédire l'activité de l'amoxicilline.
Tétracycline	30µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4	Interprétation valable pour la doxycycline.
Vancomycine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 32	8-16	≤ 4	L'incubation doit être de 24H précisément. Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides. Confirmer par la CMI de vancomycine et de teicoplanine en cas de réponse R ou I ou de screening test positif. Pour les souches dont la CMI est entre 8 et 16µg/ml, il faut confirmer l'identification biochimique
Teicoplanine	30µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14	≥ 32	16	≤ 8	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Erythromycine	15µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire.
Furanes	300µg	≤14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Recommandé pour les souches d' <i>E.faecalis</i> isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-dalfopristine	15µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A reporter pour les souches d' <i>E.faecium</i> vancomycine résistant. Les souches résistantes à la quinupristine-dalfopristine sont reportées à la pristinamycine. Les
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire.
Tigécycline**	15µg	< 20	---	≥ 20	> 0,5	---	≤ 0,5	Réponse en cas de multirésistance. Des CMI supérieures à la concentration critique de sensibilité sont très rares. L'identification et le test de sensibilité devront être répétés. En cas de confirmation, la souche devra être envoyée à un centre de référence et catégorisée «résistant».
Linezolid	30µg	≤ 20	21 – 22	≥23	≥8	4	≤2	

**Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025. Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice. BHI : Brain-Heart Infusion.

Table de lecture 8* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Vibrio* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	Interprétation valable pour amoxicilline.
Amoxicilline+Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Le disque d'AMC doit être appliqué près du disque de CTX : une image de synergie indique la présence d'une BLSE.
Céfotaxime	30 µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	
Tétracycline	30 µg	≤ 11	12 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Interprétation valable pour doxycycline. Pour la doxycycline l'interprétation est valable uniquement pour <i>V.cholerae</i>
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16	≥ 4/76	---	≤ 2/38	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Azithromycine	CMI	-----	----	----	----	----	≤ 2	Réponse valable uniquement pour <i>V.cholerae</i>
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Colistine	10 UI	-----	----	----	----	----	-----	Intérêt diagnostique.
Furanes	300 µg	-----	----	----	----	----	-----	Lecture interprétative.
Composé vibriostatique 0/129	----	-----	----	----	----	----	-----	Intérêt diagnostique.

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed Vol. 35, n°17. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Abreviations : AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique. CTX : céfotaxime. BLSE : β-Lactamase à Spectre Etendu.

Table de lecture 9* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Haemophilus influenzae* et *Haemophilus parainfluenzae*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs critiques des CMI			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10 µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 4	2	≤ 1	Interprétation valable pour amoxicilline. La majorité des souches d' <i>H. influenzae</i> résistantes à ampicilline et amoxicilline produisent une β-lactamase type TEM. Il faut effectuer un test de détection de la β-lactamase.
Amoxicilline + Ac. clavulanique	CMI	---	---	---	≥ 8/4	4/2	≤ 2/1	
Cefotaxime ou Ceftriaxone	30 µg	---	---	≥ 26	---	-----	≤ 2	
Ampicilline**	2 µg	<18	----	≥18	>1	----	≤ 1	Pour la détection des BLNAR voir chapitre tests complémentaires
Acide nalidixique (dépistage) **	30 µg	<23	---	≥ 23	----	----	----	Permet de détecter la sensibilité diminuée aux fluoroquinolones (faire CMI des fluoroquinolones si NAL résistant).
Ciprofloxacin	5µg	---	---	≥21	---	---	≤1	
Lévofoxacin	5µg	---	---	≥17	---	---	≤2	
Azithromycine	15 µg	---	---	≥ 12	---	----	≤ 4	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 25	26 – 28	≥ 29	≥ 8	4	≤ 2	
Tétracycline	30 µg	≤ 25	26 – 28	≥ 29	≥ 8	4	≤ 2	Réponse valable pour doxycycline.
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	1/19-2/38	≤ 0,5/9,5	

*Tableau extrait du Document CLSI M100. 35th ed. 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025 .

Abréviations : AMC : amoxicilline + acide clavulanique. CTX : céfotaxime. BLSE : β-Lactamase à Spectre Etendu. NAL : acide Nalidixique.

BLNAR : β-Lactamase Négative Ampicilline Résistant. CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Table de lecture 10 *: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Streptococcus* spp. groupe *viridans* (Autres que *S. pneumoniae*).

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	----	----	----	----	≥ 4	0,25-2	≤ 0,12	Ne pas tester de disque de pénicilline ou d'ampicilline. Il faut déterminer la CMI de ces 2 molécules.
Ampicilline	----	----	----	----	≥ 8	0,5-4	≤ 0,25	
Céfotaxime	30µg	≤ 25	26-27	≥ 28	≥ 4	2	≤ 1	
Gentamicine**	----	----	----	----	> 128	----	≤128	Il faut déterminer la CMI de la gentamicine dans les infections sévères. Interprétation des résultats : CMI ≤ 128 mg/L : la souche est sauvage (BNR) et la synergie est possible avec les pénicillines (ou les glycopeptides) en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. CMI > 128 mg/L : la souche a acquis un HNR à la gentamicine; La synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides est abolie.
Erythromycine	15µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Clindamycine	2µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Tétracycline	30µg	≤ 18	19-22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Les souches sensibles à la tétracycline sont considérées comme sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Vancomycine	30µg	----	----	≥ 17	----	----	≤ 1	Déterminer la CMI de la vancomycine dans les infections sévères.
Chloramphénicol	30µg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	
Rifampicine**	5 µg	< 21	----	----	> 0,25	-----	----	
Quinupristine-dalfopristine	15µg	≤ 15	16 – 18	≥19	≥4	2	≤1	Les souches résistantes à la quinupristine-dalfopristine sont reportées résistantes à la pristinaamycine
Ofloxacin	5µg	<12	13-15	≥16	≥8	4	≤ 2	
Lévofloxacin	5µg	<13	14-16	≥17	≥8	4	≤ 2	

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

** Extraits des recommandations de l'EUCAST 2025

Abreviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice. BNR : Bas Niveau de Résistance. HNR : Haut Niveau de Résistance.

Table de lecture 11 : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Streptococcus* spp. groupe β hémolytiques.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition (mm)			Valeurs critiques CMI ($\mu\text{g/ml}$)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10UI	----	----	≥ 24	----		$\leq 0,12$	
Ampicilline	10 μg	----	----	≥ 24	----		$\leq 0,25$	
Erythromycine	15 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 1	0.5	$\leq 0,25$	Détecer la résistance inductible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine ».
Clindamycine	2 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 1	0.5	$\leq 0,25$	
Tétracycline	30 μg	≤ 18	19-22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Les souches sensibles à la tétracycline sont considérées comme sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Ofloxacin	5 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 8	4	≤ 2	
Lévofoxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Vancomycine	30 μg	----	----	≥ 17	----	----	≤ 1	Pour les diamètres inférieurs à 17 mm, déterminer la CMI et vérifier l'identification bactérienne.
Quinupristine-dalfopristine (<i>S.pyogenes</i>)	15 μg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	Les souches résistantes à la quinupristine-dalfopristine sont reportées résistantes à la pristinaquine
Chloramphénicol	30 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	
Gentamicine**	500 μg	< 17	----	≥ 17	> 250	----	≤ 250	Diamètre d'inhibition ≥ 17 mm ou CMI ≤ 250 mg/L : la souche est sauvage (bas niveau de résistance) et la synergie est possible avec les pénicillines (ou les glycopeptides) en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. Pour les autres aminosides, le profil peut être différent. Diamètre d'inhibition < 17 mm ou CMI > 250 mg/L : la souche a acquis un haut niveau de résistance à la gentamicine, ainsi qu'à la kanamycine, tobramycine, dibécacine, amikacine, sisomicine et nétilmicine. La synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides est abolie.

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

** Extraits des recommandations 2023 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Table de lecture 12* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Streptococcus pneumoniae*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline parenérale (non méningite)	CMI	----	----	----	≥ 8	4	≤ 2	Les résultats d'interprétation pour la pénicilline orale peuvent être rapportés pour les souches non isolées de LCR.
Pénicilline parentérale (méningite)	CMI	----	----	----	≥ 0,12	---	≤ 0,06	
Pénicilline orale	CMI	----	----	----	≥ 2	0.12-1	≤ 0,06	
Oxacilline	1 µg		----	≥ 20	----	----	----	La détection des souches de pneumocoques PSDP se fait en testant un disque d'oxacilline (à 1µg ou 5µg). En cas de diamètre < 20 déterminer les CMI de pénicilline, amoxicilline, céfotaxime, imipénème et méropénème.
Amoxicilline	CMI	----	----	----	≥ 8	4	≤ 2	Les valeurs critiques de l'amoxicilline ne s'appliquent pas au LCR car il n'y a pas de valeurs critiques de CMI de l'amoxicilline pour ce site. L'interprétation est valable pour la ceftriaxone.
Céfotaxime (non méningite)	CMI	----	----	----	≥ 4	2	≤ 1	
Céfotaxime (méningite)	CMI	----	----	----	≥ 2	1	≤ 0,5	
Imipénème	CMI	----	----	----	≥ 1	0,25 – 0,5	≤ 0,12	
Vancomycine	30 µg	---	---	≥ 17	---	----	≤ 1	
Erythromycine	15 µg	≤15	16 – 20	≥ 21	≥ 1	0,5	≤ 0.25	
Clindamycine	2µg	≤15	16 – 18	≥ 19	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Lévofoxacine	5µg	≤13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Gémifloxacine	5µg	≤19	20 – 22	≥ 23	≥ 0,5	0,25	≤ 0,12	
Doxycycline	30µg	≤24	25 – 27	≥28	≥ 1	0.5	≤ 0.25	
Chloramphénicol	30 µg	≤20	---	≥ 21	≥ 8	---	≤ 4	
Rifampicine	5µg	≤16	17 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4/76	1/19-2/38	≤ 0,5/9,5	
Quinupristine-dalfopristine	15µg	≤ 15	16 – 18	≥19	≥4	2	≤1	Les souches résistantes à la quinupristine-dalfopristine sont reportées résistantes à la pristinaamycine

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice. LCR : Liquide céphalorachidien.

Table de lecture 13* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI, pour *Neisseria gonorrhoeae*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition (mm)			Valeurs critiques des CMI (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 26	27 – 46	≥ 47	≥ 2	0,12-1	≤ 0,06	Recherche de β-lactamase La pénicilline répond pour l'ampicilline et l'amoxicilline
Ceftriaxone	30 µg	---	---	≥ 35	---	---	≤ 0,25	Réponse d'interprétation valable pour céfixime, céfopérazone, céfdinir et céfpodoxime
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 27	28 – 40	≥ 41	≥ 1	0,12-0,5	≤ 0,063	
Tétracycline	30 µg	≤ 30	31 – 37	≥ 38	≥ 2	0,5-1	≤ 0,25	Interprétation valable pour doxycycline et la minocycline.
Spectinomycine	100 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 128	64	≤ 32	
Azithromycine	15 µg	---	---	≥ 30	---	---	≤ 1	

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing

Table de lecture 14* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Neisseria meningitidis*.

Antibiotique	Charge des disques	Concentrations critiques (mg/l)			Diamètres critiques (mm)			Commentaires
		S	I	R	S	I	R	
Pénicilline G	CMI	≤ 0,06	0,125-0,25	≥ 0,5	----	----	----	Ne pas tester de disque de pénicilline ou d'ampicilline pour <i>N.meningitidis</i> . Il faut déterminer les CMI de ces 2 molécules. Une β-lactamase (très rare) est recherchée par technique chromogénique. L'interprétation pour l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline.
Ampicilline	CMI	≤ 0,12	0,25-1	≥ 2	----	----	----	
Céfotaxime	30 µg	≤ 0,12	---	---	≥ 34	---	---	
Céftriaxone	30 µg	≤ 0,12	---	---	≥ 34	---	---	
Azithromycine	15 µg	≤ 2	---	---	≥ 20	---	---	Peut être appropriée seulement pour la prophylaxie des cas contacts d'infection méningococcique. Ces valeurs critiques ne sont pas applicables dans les cas des maladies méningococciques invasives.
Rifampicine	5 µg	≤ 0,5	1	≥ 2	≥ 25	20 - 24	≤ 19	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 2	4	≥ 8	≥ 26	20 – 25	≤ 19	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,03	0,06	≥ 0,12	≥ 35	33 – 34	≤ 32	

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing

Abréviations : CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

Table de lecture 15* : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques testés	Charge des disques	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 49226
Amikacine	30µg	19-26	20-26	20-26	----	----	----
Amoxicilline + Ac clavulanique	20/10µg	18-24	28-36	----	----	15-23	----
Ampicilline	10µg	15-22	27-35	----	30-36	13-21	----
Azithromycine	15µg	----	21-26	----	19-25	13-21	30-38
Ac nalidixique	30µg	22-28	----	----	----	----	----
Aztréonam	30µg	28-36	----	23-29	----	30-38	----
Céfazoline	30µg	21-27	29-35	----	----	----	----
Céfalotine	30µg	15-21	29-37	----	26-32	----	----
Céfoxitine	30µg	23-29	23-29	----	----	----	33-41
Céfotaxime	30µg	29-35	25-31	18-22	31-39	31-39	38-48
Céftriaxone	30µg	29-35	22-28	17-23	-----	-----	39-51
Ceftazidime	30µg	25-32	16-20	22-29	----	27-35	35-43
Ciprofloxacine	5µg	29-38	22-30	25-33	---	34-42	48-58
Colistine	10µg	11-17	----	11-17	----	-----	-----
Chloramphénicol	30µg	21-27	19-26	----	23-27	31-40	----
Clindamycine	2µg	----	24-30	----	19-25	----	----
Doxycycline	30µg	18-24	23-29	----	25-34	----	----
Ertapénème	10µg	29-36	24-31	13-21	28-35	20-28	---
Erythromycine	15µg	----	22-30	----	25-30	----	----
Fosfomycine	200µg	22-30	25-33	----	----	----	----
Furanes	300µg	20-25	18-22	----	23-29	----	----

Table de lecture 15* (suite): Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques testés	Charge des disques	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC49226
Gentamicine	10µg	19-26	19-27	17-23	----	----	----
Gémifloxacine	5µg	29-36	27-33	19-25	28-34	30-37	---
Imipénème	10µg	26-32	----	20-28	----	21-29	----
Kanamycine	30µg	17-25	19-26	----	----	----	----
Levofloxacine	5µg	29-37	25-30	19-26	20-25	32-40	----
Nétilmicine	30µg	22-30	22-31	17-23	----	----	----
Ofloxacine	5µg	29-33	24-28	17-21	16-21	31-40	43-51
Oxacilline	1µg	----	18-24	----	≤ 12	----	----
Pénicilline	10UI	----	26-37	----	24-30	----	26-34
Pipéracilline	100µg	24-30	---	25-33	----	----	----
Rifampicine	5µg	8-10	26-34	---	25-30	22-30	----
Spectinomycine	100µg	----	----	----	----	----	23-29
Tétracycline	30µg	18-25	24-30	----	27-31	14-22	30-42
Ticarcilline	75µg	24-30	----	21-27	----	----	----
Ticarcilline + ac clavulanique	75/10µg	24-30	29-37	20-28	----	----	----
Piperacilline+ tazobactam	100/10µg	24-30	27-36	25-33	----	33-38	----
Tobramycine	10µg	18-26	19-29	20-26	----	----	----
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	23-29	24-32	----	20-28	24-32	----
Teicoplanine	30µg	----	15-21	----	----	----	----
Tigécycline	15µg	20-27	20-25	9-13	23-29	23-31	30-40
Vancomycine	30µg	----	17-21	----	20-27	----	----

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . **2025**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing

Table de lecture 16*: Valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices (CMI en µg/ml) pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H.influenzae</i> ATCC 49247
Pénicilline	1-4	1-4	1-4	1-8	0,25-1	---
Ampicilline	0,5-2	0,5-2	2-8	---	0,06-0,25	2-8
Amoxicilline	---	---	---	---	0,03-0,12	---
Amox/ac clav	0,12/0,06-0,5/0,25	0,25/0,12-1/0,5	2/1-8/4	---	0,03/0,016-0,12/0,06	2/1-16/8
Tic/ ac clav	0,5/2-2/2	16/2-64/2	4/2-16/2	8/2-32/2	---	---
Pip/tazobactam	0,25/4-2/4	1/4-4/4	1/4-8/4	1/4-8/4	---	0,06/4-0,5/4
Cefoxitine	1-4	---	2-8	---	---	---
Aztreonam	---	---	0,06-0,5	2-8	---	0,12-0,5
Cefotaxime	1-4	---	0,03-0,12	8-32	0,03-0,12	0,12-0,5
Ceftriaxone	1-8	---	0,03-0,12	8-64	0,03-0,12	0,06-0,25
Cefazoline	0,25-1	---	1-4	---	---	---
Ceftazidime	4-16	---	0,06-0,5	1-4	---	0,12-1
Cefepime	1-4	---	0,016-0,12	0,5-4	0,03-0,25	0,5-2
Ertapénème	0,06-0,25	4-16	0,004-0,016	2-8	0,03-0,25	---
Imipénème	0,016-0,06	0,5-2	0,06-0,5	1-4	0,03-0,12	---
Meropénème	0,03-0,12	2-8	0,008-0,06	0,12-1	0,03-0,25	---
Doripénème	0,016-0,06	1-4	0,016-0,06	0,12-0,5	0,03-0,12	---
Oxacilline	0,12-0,5	8-32	---	---	---	---
Vancomycine	0,5-2	1-4	---	---	0,12-0,5	---
Teicoplanine	0,25-1	0,25-1	---	---	---	---
Amikacine	1-4	64-256	0,5-4	1-4	---	---
Gentamicine	0,12-1	4-16	0,25-1	0,5-2	---	---
Tobramycine	0,12-1	8-32	0,25-1	0,25-1	---	---

<http://www.pasteur.dz/aarn>
aarn@pasteur.dz

Table de lecture 16* (suite) : Valeurs limites des concentrations minimales inhibitrices (CMI en µg/ml) pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H.influenzae</i> ATCC 49247
Netilmicine	≤0,25	4-16	≤0,5-1	0,5-8	---	---
Chloramphenicol	2-16	4-16	2-8	---	2-8	0,25-1
Ofloxacin	0,12-1	1-4	0,016-0,12	1-8	1-4	0,016-0,06
Ciprofloxacine	0,12-0,5	0,25-2	0,004-0,016	0,12-1	---	0,004-0,03
Levofloxacine	0,06-0,5	0,25-2	0,008-0,06	0,5-4	0,5-2	0,008-0,03
Doxycycline	0,12-0,5	2-8	0,5-2	---	0,016-0,12	---
Tetracycline	0,12-1	8-32	0,5-2	8-32	0,06-0,5	4-32
Minocycline	0,06-0,5	1-4	0,25-1	---	---	---
Tigecycline	0,03-0,25	0,03-0,12	0,03-0,25	---	0,016-0,12	0,06-0,5
Cotrimoxazole	≤0,5/9,5	≤0,5/9,5	≤0,5/9,5	8/152-32/608	0,12/2,4-1/19	0,03/0,59-0,25/4,75
Erythromycine	0,25-1	1-4	---	---	0,03-0,12	---
Clindamycine	0,06-0,25	4-16	---	---	0,03-0,12	---
Azithromycine	0,5-2	---	---	---	0,06-0,25	1-4
Quinupristine/dalfopristine	0,25-1	2-8	---	---	0,25-1	2-8
Clarithromycine	0,12-0,5	---	---	---	0,03-0,12	4-16
Fosfomycine	0,5-4	32-128	0,5-2	2-8	---	---
Colistine	---	---	---	0,25-2	---	---

*Tableau extrait du Document CLSI M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing

Table de lecture17*: Valeurs critiques des CMI pour *Yersinia pestis*.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques des CMI (µg/ml)			Commentaires
	S	I	R	
Streptomycine	≤ 4	8	≥ 16	
Gentamicine	≤ 4	8	≥ 16	
Ciprofloxacine	≤ 0,25	---	---	Pour les souches non sensibles, l'identification et la CMI doivent être confirmées.
Lévofloxacine	≤ 0,25	---	---	
Tétracycline	≤ 4	8	≥ 16	
Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
Chloramphénicol	≤ 8	16	≥ 32	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	≤ 2/38	---	≥ 4/76	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture18*: Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Campylobacter jejuni/coli*.

Antibiotiques	Charge des disques	Valeurs critiques (mm)			Valeurs critiques des CMI (µg/ml)			Commentaire
		R	I	S	R	I	S	
Erythromycine	15 µg	≤12	13-15	≥ 16	≥ 32	16	≤ 8	Interprétation valable pour l'azithromycine.
Ciprofloxacine	5 µg	≤20	21-23	≥ 24	≥ 4	2	≤ 1	
Tétracycline	30 µg	≤22	23-25	≥ 26	≥ 16	8	≤ 4	La tétracycline peut être utilisée pour déterminer la sensibilité à la doxycycline.
Doxycycline	CMI	--	--	--	≥ 8	4	≤ 2	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 19*: Valeurs critiques des CMI pour *Helicobacter pylori*.

Antibiotique testé	Valeurs critiques des CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Clarithromycine	≥ 1	0,5	≤ 0,25	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 20*: Valeurs critiques des CMI pour les bactéries anaérobies strictes.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques des CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 2	1	≤ 0,5	
Ampicilline	≥ 2	1	≤ 0,5	Interprétation valable pour l'amoxicilline.
Amoxicilline+acide clavulanique	≥ 16/8	8/4	≤ 4/2	
Ticarcilline+acide clavulanique	≥ 128/2	64/2	≤ 32/2	
Céfoxitine	≥ 64	32	≤ 16	
Céfotaxime	≥ 64	32	≤ 16	
Céftriaxone	≥ 64	32	≤ 16	
Imipénème	≥ 16	8	≤ 4	
Ertapénème	≥ 16	8	≤ 4	
Tétracycline	≥ 16	8	≤ 4	
Clindamycine	≥ 8	4	≤ 2	
Chloramphénicol	≥ 32	16	≥ 8	
Métronidazole	≥ 32	16	≥ 8	

*Tableau extrait du Document M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing

Table 21* : Valeurs critiques des CMI pour *Brucella* spp.

Antibiotiques	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Streptomycine	---	---	≤ 8	Valeur critique sensible : ≤ 16 µg/ml si incubation sous CO ₂ et ≤ 8 µg/ml si incubation en atmosphère ordinaire.
Gentamicine	---	---	≤ 4	
Tétracycline	---	---	≤ 1	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Doxycycline	---	---	≤ 1	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	---	---	≤ 2/38	

*Tableau extrait du Document CLSI M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 22* : Valeurs critiques des CMI pour *Corynebacterium* spp. (*C.diphtheriae* inclus) et genres apparentés.

Antibiotiques	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	≥4	0,25 - 2	≤0,12	
Céfotaxime	≥4	2	≤1	
Céftriaxone	≥4	2	≤1	
Gentamicine	≥16	8	≤4	
Erythromycine	≥2	1	≤0,5	
Clindamycine	≥4	1 - 2	≤0,5	
Quinupristine-Dalfopristine	≥4	2	≤1	
Ciprofloxacine	≥4	2	≤1	
Tétracycline	≥16	8	≤4	
Doxycycline	≥16	8	≤4	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	≥4/76	---	≤2/38	
Vancomycine	---	---	≤2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).

*Tableau extrait du Document CLSI M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 23* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pasteurella* spp.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	---	---	≥ 25	---	---	≤ 0,5	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Ampicilline	10 µg	---	---	≥ 27	---	---	≤ 0,5	
Amoxicilline	CMI	---	---	---	---	---	≤ 0,5	
Amoxicilline +ac.clavulanique	20/1 0µg	---	---	≥ 27	---	---	≤ 0,5/0,25	
Céftriaxone	30 µg	---	---	≥ 34	---	---	≤ 0,12	
Erythromycine	15 µg	≤ 24	25 – 26	≥ 27	≥ 2	1	≤ 0,5	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Azithromycine	15 µg	---	---	≥ 20	---	---	≤ 1	
Lévofoxacine	5 µg	---	---	≥ 28	---	---	≤ 0,06	
Tétracycline	30 µg	---	---	≥ 23	---	---	≤ 1	
Doxycycline	30 µg	---	---	≥ 23	---	---	≤ 0,5	
Chloramphénicol	30 µg	---	---	≥ 28	---	---	≤ 2	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	---	---	≥ 24	---	---	≤ 0,5/9,5	

*Tableau extrait du Document CLSI M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 24* : Valeurs critiques des CMI pour les bactéries du groupe HACEK [*Aggregatibacter* spp. (anciennement *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *H. segnis* et *Actinobacillus actinomycetemcomitans*), *Cardiobacterium* spp., *Eikenella corrodens* et *Kingella* spp.].

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 4	2	≤ 1	
Ampicilline	≥ 4	2	≤ 1	
Amoxicilline+acide clavulanique	≥ 8/4	---	≤ 4/2	
Céfotaxime	---	---	≤ 2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Céftriaxone	---	---	≤ 2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Imipénème (<i>Aggregatibacter</i> spp.) Imipénème (autres micro-organismes)	≥ 16 ≥ 2	8 1	≤ 4 ≤ 0,5	
Azithromycine	---	---	≤ 4	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Clarithromycine	≥ 32	16	≤ 8	
Ciprofloxacine	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	≥ 8	4	≤ 2	
Tétracycline	≥ 8	4	≤ 2	
Chloramphénicol	≥ 16	8	≤ 4	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	≥ 4/76	1/19-2/38	≤ 0,5/9,5	

*Tableau extrait du Document CLSI M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 25* : Valeurs critiques des CMI pour *Listeria monocytogenes*.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	---	---	≤ 2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Ampicilline	---	---	≤ 2	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	---	---	≤ 0,5/9,5	

*Tableau extrait du Document CLSI M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 26 * : Valeurs critiques des CMI pour *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Pénicilline	---	---	≤ 0,12	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Ampicilline	---	---	≤ 0,25	
Céfotaxime	---	---	≤ 1	
Céftriaxone	---	---	≤ 1	
Imipénème	---	---	≤ 0,5	
Erythromycine	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Clindamycine	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Ciprofloxacine	---	---	≤ 1	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Lévofloxacine	---	---	≤ 2	

*Tableau extrait du Document CLSI M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 27* : Valeurs critiques des CMI pour *Bacillus anthracis*.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 1	---	≤ 0,5	
Amoxicilline	≥ 0,25	---	≤ 0,12	
Ciprofloxacine	---	---	≤ 0,25	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Lévofloxacine	---	---	≤ 0,25	
Tétracycline	---	---	≤ 1	
Doxycycline	---	---	≤ 1	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. 2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 28* : Valeurs critiques des CMI pour *Burkholderia mallei* et *Burkholderia pseudomallei*.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Amoxicilline+acide clavulanique (<i>B. pseudomallei</i>)	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	
Ceftazidime (<i>B. mallei</i> et <i>B. pseudomallei</i>)	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème (<i>B. mallei</i> et <i>B. pseudomallei</i>)	≥ 16	8	≤ 4	
Tétracycline (<i>B. mallei</i> et <i>B. pseudomallei</i>)	≥ 16	8	≤ 4	
Doxycycline (<i>B. mallei</i> et <i>B. pseudomallei</i>)	≥ 16	8	≤ 4	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole (<i>B. pseudomallei</i>)	≥ 4/76	---	≤ 2/38	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 29* : Valeurs critiques des CMI pour *Francisella tularensis*.

Antibiotiques testés	Valeurs Critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Streptomycine	---	---	≤ 8	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Gentamicine	---	---	≤ 4	
Ciprofloxacine	---	---	≤ 0,5	
Lévofloxacine	---	---	≤ 0,5	
Tétracycline	---	---	≤ 4	
Doxycycline	---	---	≤ 4	
Chloramphénicol	---	---	≤ 8	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 30* : Valeurs critiques des CMI pour *Abiotrophia* spp. et *Granulicatella* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs Critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 4	0,25 - 2	≤ 0,12	Pour le traitement des endocardites infectieuses il est recommandé d'utiliser les β-lactamines en association avec la gentamicine.
Ampicilline	≥ 8	0,5 - 4	≤ 0,25	
Céfotaxime	≥ 4	2	≤ 1	
Céftriaxone	≥ 4	2	≤ 1	
Imipénème	≥ 2	1	≤ 0,5	
Vancomycine	---	---	≤ 1	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI). Pour le traitement des endocardites infectieuses il est recommandé d'utiliser la vancomycine en association avec la gentamicine.
Erythromycine	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Clindamycine	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Ciprofloxacine	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	≥ 8	4	≤ 2	
Chloramphénicol	≥ 8	---	≤ 4	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 31* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Aeromonas* spp. (incluant *A. caviae* complex, *A. hydrophila* complex et *A. veronii* complex).

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Céfoxitine	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Céfotaxime	30 µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	Interprétation basée sur une posologie de 1g toutes les 8h.
Ceftazidime	30 µg	≤ 17	18 - 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Interprétation basée sur une posologie de 1g toutes les 8h.
Imipénème	10 µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Interprétation basée sur une posologie de 500mg toutes les 6h ou 1g toutes les 8h.
Ertapénème	10 µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5	Interprétation basée sur une posologie de 1g toutes les 24h.
Aztréonam	30 µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Interprétation basée sur une posologie de 1g toutes les 8h.
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Tétracycline	30 µg	≤ 11	12 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 8	4	≤ 2	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	---	≤ 2/38	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 32* : Valeurs critiques des CMI pour *Bacillus* spp. (autres que *B. anthracis*) et genres apparentés.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques des CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 0,25	---	≤ 0,12	
Ampicilline	≥ 0,5	---	≤ 0,25	
Imipénème	≥ 16	8	≤ 4	
Vancomycine	---	---	≤ 4	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Gentamicine	≥ 16	8	≤ 4	
Amikacine	≥ 64	32	≤ 16	
Erythromycine	≥ 8	1 - 4	≤ 0,5	
Clindamycine	≥ 4	1 - 2	≤ 0,5	
Ciprofloxacine	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	≥ 8	4	≤ 2	
Tétracycline	≥ 16	8	≤ 4	
Chloramphénicol	≥ 32	16	≤ 8	
Triméthoprim+sulfaméthoxazole	≥ 4/76	---	≤ 2/38	

Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 33* : Valeurs critiques des CMI pour *Lactobacillus* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	---	---	≤ 8	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Ampicilline	---	---	≤ 8	
Imipénèm	≥ 2	1	≤ 0,5	
Vancomycine	≥ 16	4 - 8	≤ 2	
Erythromycine	≥ 8	1 - 4	≤ 0,5	
Clindamycine	≥ 2	1	≤ 0,5	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 34* : Valeurs critiques des CMI pour *Leuconostoc* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	---	---	≤ 8	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Ampicilline	---	---	≤ 8	
Minocycline	≥ 16	8	≤ 4	
Chloramphénicol	≥ 32	16	≤ 8	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 35* : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Moraxella catarrhalis*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 23	---	≥ 24	≥ 8/4	---	≤ 4/2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Céfotaxime	CMI	---	---	---	---	---	≤ 2	
Céftriaxone	CMI	---	---	---	---	---	≤ 2	
Erythromycine	15µg	---	---	≥ 21	---	---	≤ 2	
Clindamycine	CMI	---	---	---	≥ 4	1 - 2	≤ 0,5	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Azithromycine	15µg	---	---	≥ 26	---	---	≤ 0,25	
Clarithromycine	15µg	---	---	≥ 24	---	---	≤ 1	
Tétracycline	30µg	≤ 24	25 – 28	≥ 29	≥ 8	4	≤ 2	
Ciprofloxacine	CMI	---	---	---	---	---	≤ 1	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Lévofloxacine	CMI	---	---	---	---	---	≤ 2	
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 12	≥ 13	≥ 4/76	1/19 – 2/38	≤ 0,5/9,5	
Chloramphénicol	CMI	---	---	---	≥ 8	4	≤ 2	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 36* : Valeurs critiques des CMI pour *Pediococcus* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	---	---	≤ 8	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Ampicilline	---	---	≤ 8	
Imipénème	---	---	≤ 0,5	
Chloramphénicol	≥ 32	16	≤ 8	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 37* : Valeurs critiques des CMI pour *Aerococcus* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 4	0,25 - 2	≤ 0,12	
Céfotaxime	≥ 4	2	≤ 1	
Céftriaxone	≥ 4	2	≤ 1	
Vancomycine	---	---	≤ 1	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Ciprofloxacine	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	≥ 8	4	≤ 2	
Tétracycline	≥ 8	4	≤ 2	
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	≥ 4/76	---	≤ 2/38	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 38* : Valeurs critiques des CMI pour *Gemella* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 4	0,25 - 2	≤ 0,12	Pour le traitement des endocardites infectieuses, il est recommandé d'utiliser la pénicilline en association avec la gentamicine.
Céfotaxime	≥ 4	2	≤ 1	
Céftriaxone	≥ 4	2	≤ 1	
Vancomycine	---	---	≤ 1	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI). Pour le traitement des endocardites infectieuses, il est recommandé d'utiliser la vancomycine en association avec la gentamicine.
Lévofloxacine	≥ 8	4	≤ 2	
Erythromycine	≥ 1	0,5	≤ 0,25	
Clindamycine	≥ 1	0,5	≤ 0,25	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 39* : Valeurs critiques des CMI pour *Lactococcus* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 4	2	≤ 1	Pour le traitement des infections sévères comme les endocardites infectieuses, il est recommandé d'utiliser les β-lactamines en association avec la gentamicine.
Ampicilline	≥ 4	2	≤ 1	
Céftriaxone	≥ 4	2	≤ 1	
Vancomycine	---	---	≤ 2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI). Pour le traitement des infections sévères comme les endocardites infectieuses, il est recommandé d'utiliser la vancomycine en association avec la gentamicine.
Tétracycline	≥ 8	4	≤ 2	
Erythromycine	≥ 8	1 - 4	≤ 0,5	
Clindamycine	≥ 4	1 - 2	≤ 0,5	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 40* : Valeurs critiques des CMI pour *Micrococcus* spp.

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 0,25	---	≤ 0,12	
Vancomycine	---	---	≤ 2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Erythromycine	≥ 8	1 - 4	≤ 0,5	
Clindamycine	≥ 4	1 - 2	≤ 0,5	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed. **2016**. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 41* : Valeurs critiques des CMI pour *Rothia mucilaginosa* .

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaire
	R	I	S	
Pénicilline	≥ 4	0,25 - 2	≤ 0,12	
Vancomycine	---	---	≤ 2	Les souches non sensibles doivent être confirmées (identification et CMI).
Erythromycine	≥ 8	1 - 4	≤ 0,5	
Clindamycine	≥ 4	1 - 2	≤ 0,5	
Lévofoxacine	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	≥ 4/76	---	≤ 2/38	

*Tableau extrait du Document M45, 3rd ed Vol. 35, n°17. **2015.** Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria.

Table de lecture 43* : Valeurs critiques des CMI pour les autres bactéries non fermentaires (Bacilles à Gram négatif non exigeants et non fermentaires, excluant *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. , *Aeromonas* spp. , *S. maltophilia*, *B. cepacia*, *B. mallei*, *B. pseudomallei* et *Vibrio* spp).

Antibiotiques testés	Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
	R	I	S	
Céfotaxime	≥ 64	16 - 32	≤ 8	
Ceftazidime	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	≥ 16	8	≤ 4	
Amikacine	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	≥ 16	8	≤ 4	
Doxycycline	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	≥ 4	2	≤ 1	
Chloramphénicol	≥ 32	16	≤ 8	Résultat non reporté en routine pour les souches isolées du tractus urinaire
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	≥ 4/76	---	≤ 2/38	

**Tableau extrait du Document M100 . 35th ed . 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing

Références bibliographiques :

- 1- CLSI.Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. 3rd ed. CLSI guideline M45. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016
- 2- CLSI.Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2025
- 3- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.Version 15.0, 2025. <https://www.eucast.org>.
- 4- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations 2023 V.1.0 Juin

