

la méthodologie d'étude de la sensibilité aux antibiotiques

par diffusion et par dilution

Pascal Sanders
Mireille Bruneau
Christophe Soumet

Anses
Laboratoire de Fougères
10 B, rue Claude Bourgelat
40608
35302 Fougères Cedex

Les antibiotiques sont des médicaments indispensables dans l'arsenal thérapeutique à la disposition du médecin et du vétérinaire.

La cible thérapeutique est la bactérie pathogène.

La sensibilité à un antibiotique peut être déterminée par des méthodes standardisées de laboratoire décrites dans cet article.

L'effet d'un antibiotique sur le développement d'une souche bactérienne isolée et identifiée au niveau de l'espèce bactérienne est mesuré *in vitro* par des méthodes standardisées.

● Deux méthodes sont classiquement utilisées :
- la méthode par diffusion en gélose, appelée antibiogramme, qui exprime la sensibilité sous forme d'un diamètre d'inhibition mesuré en mm ;
- et la méthode par dilution qui exprime la sensibilité sous la forme de concentrations minimales inhibitrices (CMI). Cette dernière est la méthode de référence pour mesurer la sensibilité à un antibiotique [1].

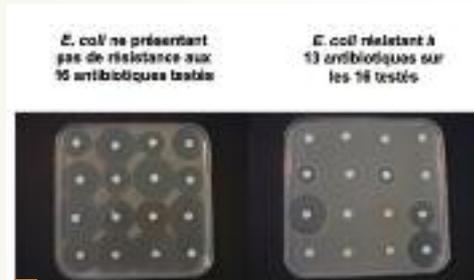
● Nous proposons de décrire les grands principes techniques des deux méthodes de détermination de la sensibilité à un antibiotique d'un isolat bactérien : la méthode par dilution et la méthode par diffusion.

LA MÉTHODE PAR DILUTION

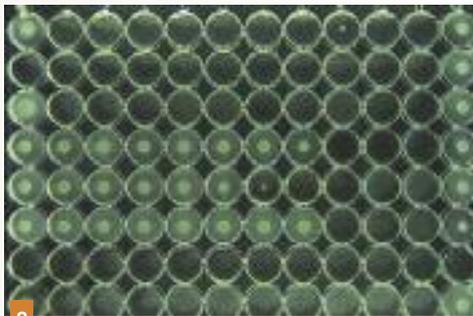
● Pour un antibiotique donné, une gamme de dilution de l'antibiotique, de raison 2, est réalisée dans un milieu liquide ou dans un milieu solide.

● La méthode couramment utilisée est basée sur l'utilisation de plaques de microdilution. Celles-ci permettent de tester la sensibilité à un ensemble d'antibiotiques en bouillon de culture (photo 1). Chaque puits de la microplaque est ensemencé avec une suspension bactérienne standardisée dont on connaît l'espèce.

● La CMI est la première concentration qui stoppe la multiplication bactérienne, et



1 Antibiogramme basé sur la détermination de CMI par dilution en microplaque (photo P. Sanders, Anses, Laboratoire de Fougères).



2 Antibiogrammes basés sur la détermination de diamètre d'inhibition par la méthode diffusion en milieu gélosé.
- Gauche : *E. coli* sensible aux 16 antibiotiques testés.
- Droite : *E. coli* résistant à 13 des 16 antibiotiques testés (photo E. Jouy, Anses, Laboratoire de Ploufragan).

ne permet pas d'observer une croissance visible après un temps d'incubation dans des conditions de culture prédéfinies (milieu de culture, température d'incubation, pH, teneur en O₂ et CO₂).

Pour la plupart des espèces bactériennes, les CMI sont obtenues en étudiant la croissance après 18 à 24 h d'incubation.

LA MÉTHODE PAR DIFFUSION

● Une méthode indirecte, couramment utilisée par les laboratoires de diagnostic, détermine le diamètre d'inhibition d'une croissance visible autour de disques, contenant des quantités définies d'antibiotique disposés à la surface d'un milieu gélosé, ensemencé par une suspension ajustée d'un isolat bactérien (photo 2).

Chaque isolement bactérien est identifié au niveau de l'espèce bactérienne. L'antibiotique diffuse dans la gélose autour du disque-pastille,

Objectif pédagogique

■ Connaître les principes techniques de deux méthodes de détermination de la sensibilité à un antibiotique d'un isolat bactérien : la méthode par dilution, et la méthode par diffusion.

1^{er} Prix éditorial 2013

Essentiel

■ La méthode de référence pour mesurer la sensibilité à un antibiotique d'une souche bactérienne est la méthode par dilution (dilutions en milieu gélosé).

■ La sensibilité à un antibiotique s'effectue pour un isolat bactérien pur identifié au niveau de l'espèce bactérienne.

■ La sensibilité à un antibiotique nécessite des conditions de culture (milieux, température, atmosphère) standardisé en fonction de l'espèce bactérienne.

CHEVAL

■ Crédit Formation Continue : 0,05 CFC par article