

CMI en milieu liquide



Quand faire une CMI ?

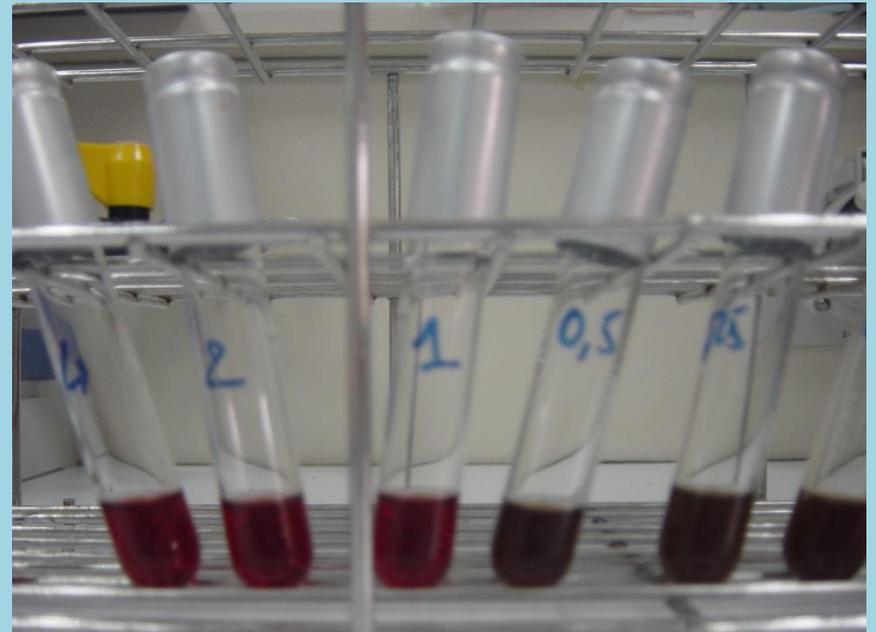
Si le diamètre de l'oxacilline $1\mu\text{g}$ $<$ 20 mm

Faire CMI β - lactamines: Pénicilline, amoxicilline (prélèvement autre que LCR), cefotaxime (ou ceftriaxone) et imipénème.

Quelle technique ?

E-test: en cas d'urgence

Technique de référence: dilution en milieu liquide



Technique de dilution en milieu liquide

Préparation d'une gamme de dilution de l'antibiotique de 0,016 à 128 mg/l.

N° tube	Volume de la solution d'antibiotique à rajouter	Concentration intermédiaire (µg /ml)	Volume MH supplémenté en sang	Inoculum	Concentration finale (vol final:1ml/tube)
1	0,25ml de la solution à 1024µg/ml	512	0,70 ml	50µl /tube	128 µg/ml
2	0,25ml de la solution à 512µg/ml	256	0,70 ml	50µl /tube	64 µg/ml
3	0,25ml de la solution à 256µg/ml	128	0,70 ml	50µl /tube	32 µg/ml
4	0,25ml de la solution à 128µg/ml	64	0,70 ml	50µl /tube	16 µg/ml
5	0,25ml de la solution à 64µg/ml	32	0,70 ml	50µl /tube	8 µg/ml
6	0,25ml de la solution à 32µg/ml	16	0,70 ml	50µl /tube	4 µg/ml
7	0,25ml de la solution à 16µg/ml	8	0,70 ml	50µl /tube	2 µg/ml
8	0,25ml de la solution à 8µg/ml	4	0,70 ml	50µl /tube	1 µg/ml
9	0,25ml de la solution à 4µg/ml	2	0,70 ml	50µl /tube	0,5 µg/ml
10	0,25ml de la solution à 2µg/ml	1	0,70 ml	50µl /tube	0,25 µg/ml
11	0,25ml de la solution à 1µg/ml	0,5	0,70 ml	50µl /tube	0,125 µg/ml
12	0,25ml de la solution à 0.5µg/ml	0,25	0,70 ml	50µl /tube	0,063 µg/ml
13	0,25ml de la solution à 0,25µg/ml	0,125	0,70 ml	50µl /tube	0,032 µg/ml
14	0,25ml de la solution à 0,125µg/ml	0,063	0,70 ml	50µl /tube	0,016 µg/ml
T			0,70 ml	50µl /tube	

Les antibiotiques à tester:

Pénicilline, amoxicilline (pour les souches non isolées de LCR), cefotaxime (ou ceftriaxone) et imipénème



Peser 10,24 mg de l'antibiotique à tester (ex: pénicilline) et les dissoudre dans 10 ml d'eau distillée stérile . C'est la solution mère à 1024mg/l

Mélanger 1,5 ml de sang de cheval hémolysé et défibriné dans 48,5 ml de MH liquide ajusté en cations pour obtenir 50 ml de milieu (MH + 2 à 5% de sang de cheval hémolysé et défibriné)



**MH
liquide**

**Sang hémolysé
défibriné**





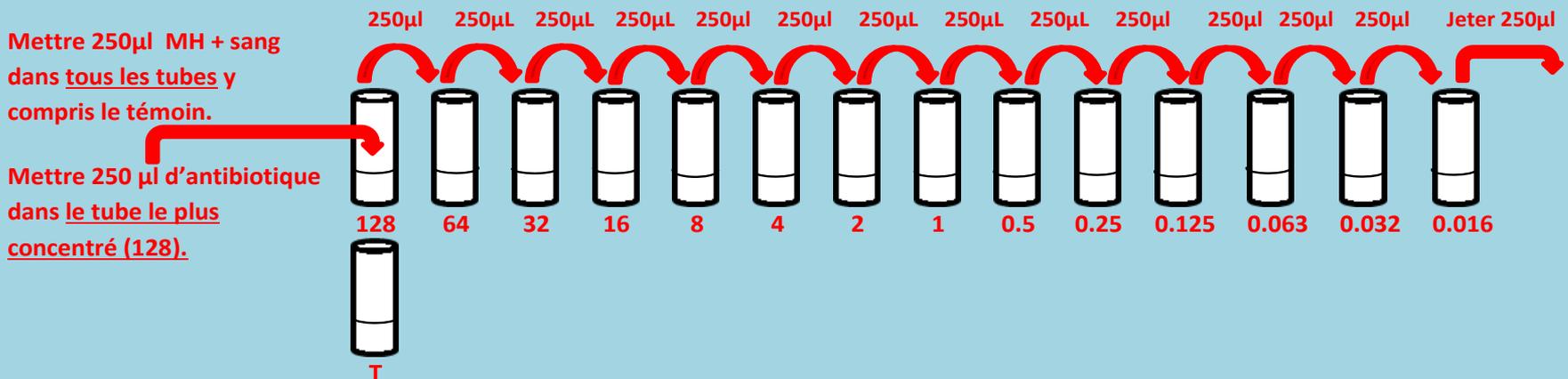
Numéroter les tubes de 0,016 $\mu\text{g/ml}$ à 128 $\mu\text{g/ml}$
Ajouter un tube témoin

Répartir 250 μ l de MH + sang par tube (14+ un tube témoin).
Rajouter 250 μ l de la solution mère d'antibiotique dans le tube à 128 μ g/ml.

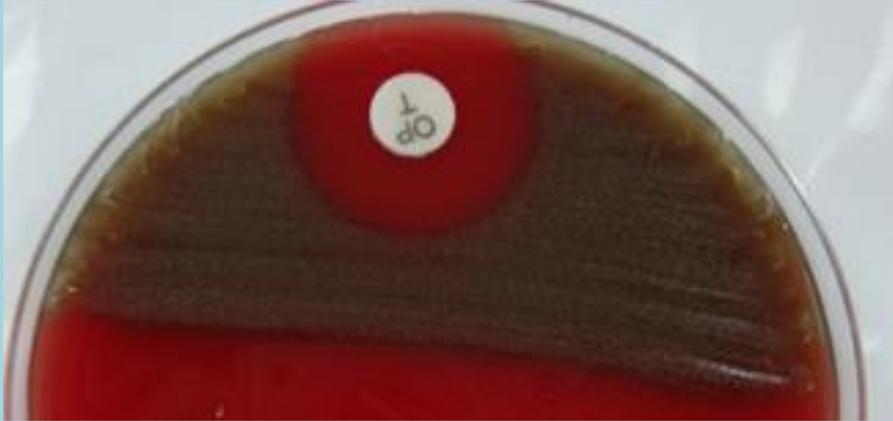
Faire une dilution de demi en demi en prenant 250 μ l de la concentration la plus élevée et la mettre dans la dilution suivante et ainsi de suite(voir schéma).

Le dernier volume prélevé (du tube 0,016) sera jeté.

Rajouter 700 μ l de MH liquide dans chaque tube y compris le tube témoin.



Isolement sur GSF + tube 0,5 Mc Farland



Culture de 18 heures d'une souche de *S.pneumoniae* avec un disque d'optochine dans le premier quadrant

Inoculation de la souche: ajouter à raison de 50 μ l de la solution à 0,5 Mc F dans chaque tube y compris le tube témoin.



Incubation: atmosphère normale (sans CO₂) à
35 °C pendant 20 à 24 heures



Lecture:

1-Valider le résultat de CMI pour *S.pneumoniae* ATCC 49619.

2- Vérifier qu'il y a eu pousse dans les tubes témoins

La valeur de CMI correspond à la première concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne. L'inhibition de croissance se traduit par un éclaircissement de la couleur du milieu.

(dans cet exemple la CMI est de 1 μg /ml)

Interprétation des résultats

Tableau de lecture 10 - Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Streptococcus pneumoniae*

Antibiotiques testés	Charge des dilués	Valeurs critiques des diamètres d'inhibition (mm)			Valeurs critiques CMI (µg/ml)			Commentaires
		S	I	R	S	I	R	
Penicilline	10µg	—	—	≥ 24	—	—	≤ 0,12	
Ampicilline	10µg	—	—	≥ 24	—	—	≤ 0,25	
Erythromycine	15µg	≤ 12	13-15	≥ 15	≤ 1	1,1 - 0,6	≤ 0,25	Observer les effets de la résistance à P
Chloramphénicol	30µg	≤ 13	14-18	≥ 19	≤ 1	1,1 - 0,5	≤ 0,25	Les résultats sont interprétés en fonction de la sensibilité aux autres antibiotiques
Tétracycline	30µg	≤ 18	19-27	≥ 28	≤ 2	2,1 - 0,5	≤ 0,2	
Ofloxacine	5µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≤ 0,6	0,7 - 0,4	≤ 0,2	
Levofloxacine	5µg	≤ 13	14-15	≥ 16	≤ 0,6	0,7 - 0,4	≤ 0,2	
Vancomycine	30µg	—	—	≥ 17	—	—	≤ 0,2	
Quinolone-gatifloxacine (Gatifloxacine)	15µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≤ 4	5 - 2	≤ 1	Pour les 24 bactéries
Chloramphénicol	30µg	≤ 17	18-20	≥ 21	≤ 16	17 - 8	≤ 4	
Gentamicine**	10µg	≤ 17	—	≥ 17	≤ 250	—	—	Diamètre mesuré en présence d'antibiotique

Tableau de lecture 10 - Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Streptococcus pneumoniae*

INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE
SERVICE DE BACTÉRIOLOGIE MÉDICALE

FICHE DE CMI

N° IPA: Exemple 1

NOM: X.A. PRENOM: X.A. AGE: ...

EXTERNE HOSPITALISÉ HOPITAL SERVICE

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES:

TRAITEMENT ATB RECU:

GERMES IDENTIFIÉS: *S. pneumoniae*

ATB A TESTER: *Pénicilline*

RÉSULTATS DE LA CMI:

ATCC 49619 Souche (exemple) 0,25 µg/ml (0,25-1) ok

Interprétation: 1 µg/ml

Si: Souche isolée de LCR: R
Souche isolée d'un prélèvement autre que LCR: S

Reporter les résultats respectifs d'*S.pneumoniae* ATCC 49619 et de la souche testée

Interpréter les résultats obtenus, en s'aidant du fascicule de standardisation

Classer la souche dans la catégorie R, I ou S selon le résultat.

Dans cet exemple:

ATCC 49619: 0,25µg/ml → (0,25-1)

Souche (exemple1): 1µg/ml

- Cas d'une souche isolée d'un LCR : R
- Cas d'une souche isolée d'un prélèvement autre que LCR: S