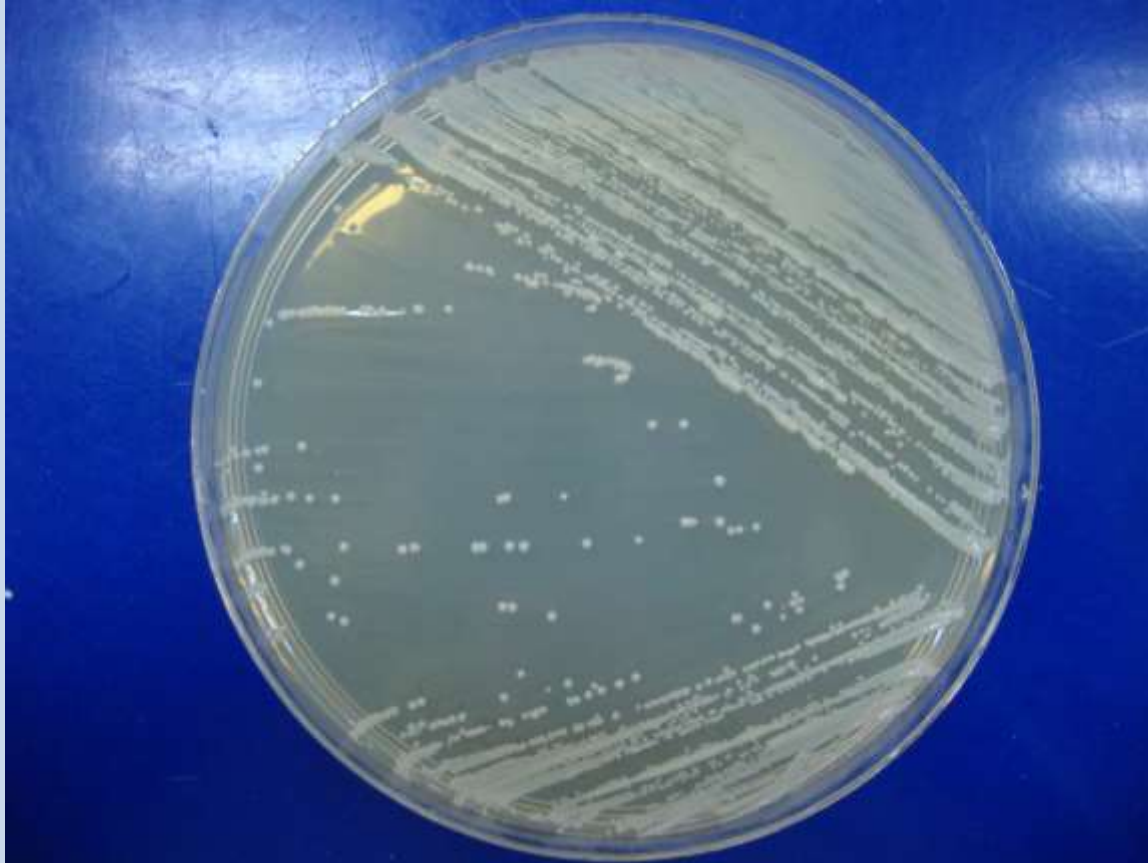


CMI en milieu solide



Culture d'une souche d' *E.coli* pure de 18 heures



Poudre d'antibiotique d'ampicilline titrée (ou à défaut de la poudre à usage parentéral)



En utilisant une balance de précision;
Peser 20 mg de l'antibiotique à tester



Diluer l'antibiotique dans le solvant approprié
Le volume utilisé dépend du titre de l'antibiotique

$$\text{Titre} \times 0,1 = \text{volume}$$

Exemple: poudre qui titre 98 % : $98 \times 0,1 = 9,8 \text{ ml}$ → on obtient
une solution mère $2000 \mu\text{g}/\text{ml}$

Liste des solvants

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
Imipénème	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
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	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile
Vancomycine	Eau distillée stérile	Eau distillée stérile



Numéroter une série de 14 tubes à vis
Répartir l'eau distillée stérile selon le schéma suivant

Etape	Concentration (µg/ml)	ATB (ml)	Diluant (ml)	Concentration intermédiaire	Concentration finale dans la gélose (µg/ml)
Solution mère	2000	6.4	3.6	1280	128
1	1280	2	2	640	64
2	1280	1	3	320	32
3	1280	0.5	3.5	160	16
4	1280	0.5	7.5	80	8
5	80	2	2	40	4
6	80	1	3	20	2
7	80	0.5	3.5	10	1
8	80	0.5	7.5	5	0.5
9	5	2	2	2.5	0.25
10	5	1	3	1.25	0.125
11	5	0.5	3.5	0.63	0.063
12	5	0.5	7.5	0.32	0.032
13	0.32	2	2	0.16	0.016

Une fois dilué l'antibiotique doit être gardé à +4° C en attendant son utilisation dans la même journée

18 ml MH



Faire fondre le Mueller Hinton (MH) et le maintenir à une température voisine de 45°C

Calibrer un tube à 18 ml

Numéroter une série de boîtes de 0,016 à 128 en tenant compte de l'orientation de la boîte.

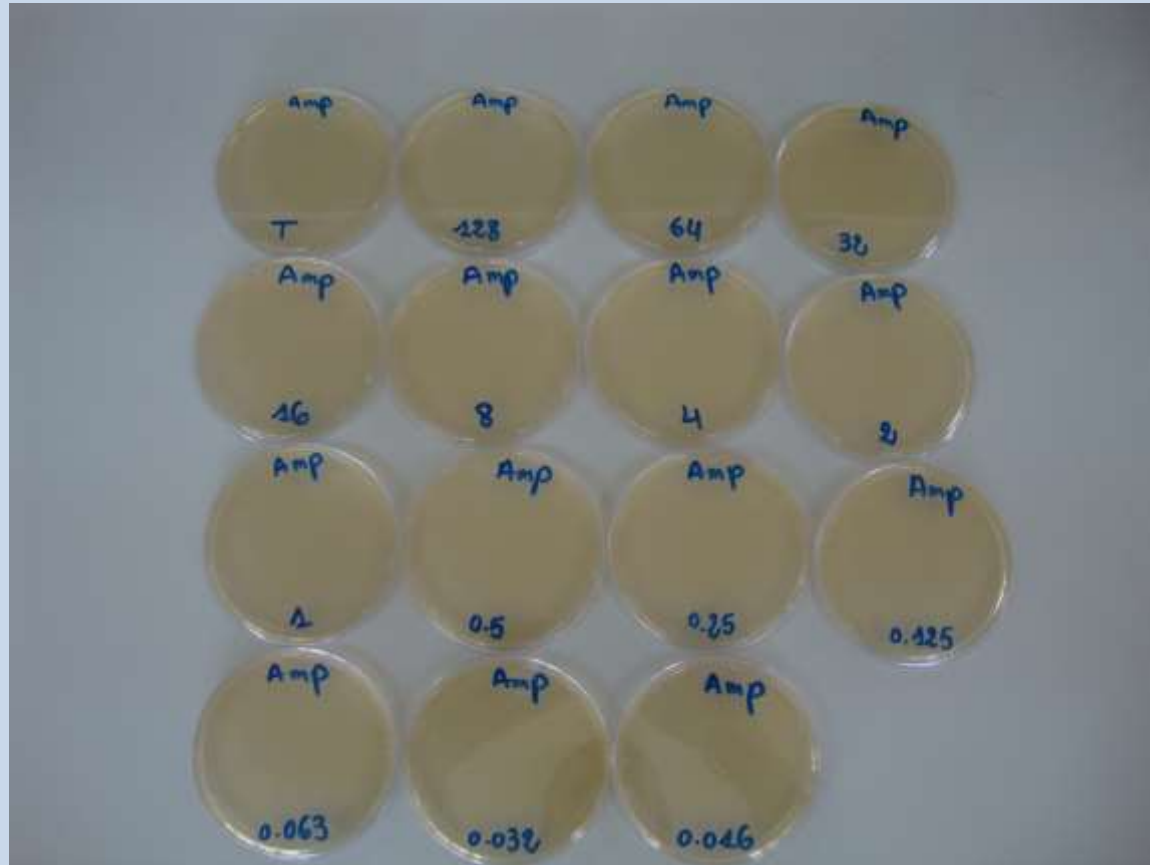
Inclure une boîte témoin (T).

Verser 2 ml de chaque dilution d'antibiotique dans la boîte correspondante

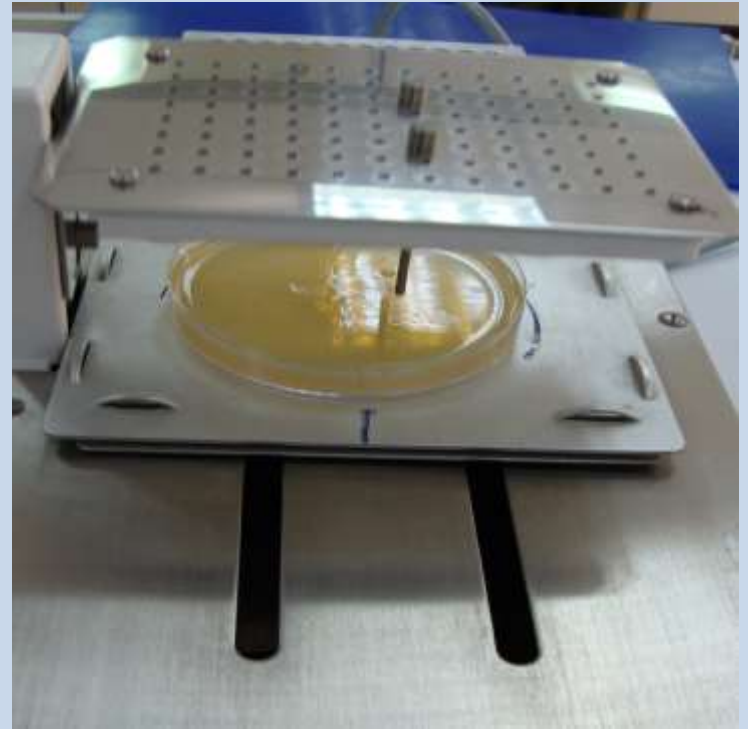
Ex: dilution 0,16 $\mu\text{g} / \text{ml}$  boîte 0,016 $\mu\text{g} / \text{ml}$

Pour la boîte témoin, à la place de l'antibiotique, mettre 2 ml d'eau distillée stérile

Incorporer 18 ml de MH dans chaque boîte et mélanger par mouvements rotatoires



Laisser solidifier les boîtes
(couvercle vers le haut)



Inoculation:

Préparer le schéma d'inoculation.

Déposer un volume de 2 μ l par inoculum

- A l'aide d'un appareil de Steers automatique.

- Manuellement, à l'aide d'une micropipette et d'embouts stériles

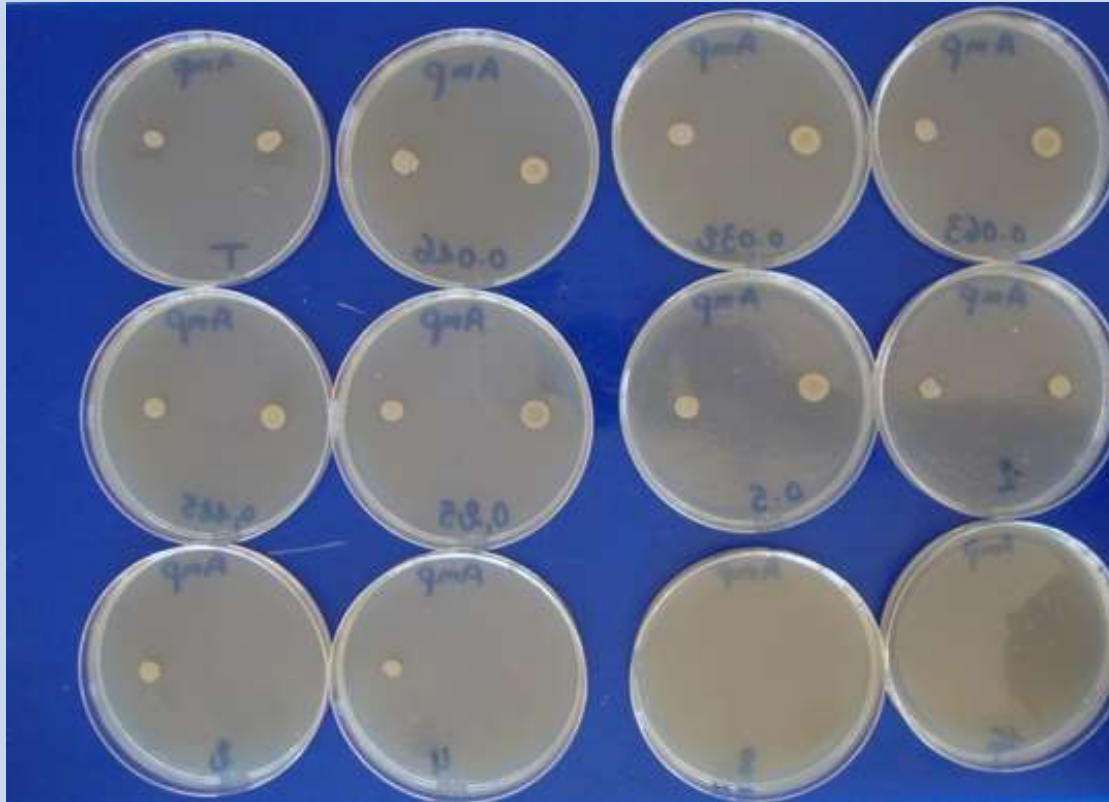
Une même boîte peut servir à tester jusqu'à 26 souches

Tester une souche de référence pour chaque série de CMI

Incubation:

Les conditions d'incubation sont fonction des exigences de la bactérie étudiée

Lecture:



Tenir compte du schéma d'inoculation

Enlever le couvercle des boîtes pour la lecture

Vérifier la croissance bactérienne sur la boîte témoin

Noter la plus petite dilution qui ne donne plus de culture visible (la présence de 3 colonies est tolérée)

Interprétation des résultats

Reporter les résultats respectifs d'*E. coli* ATCC 25922 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 25922: 8 µg/ml → (2-8)

Souche (exemple): 2 µg/ml → S

Document de l'Institut Pasteur d'Algérie - Service de Bactériologie Médicale. Titre: "Table de lecture 1° - Valeurs critiques des diureses des zones d'inhibition et des CMI pour Enterobactéries".

Antibiotique	Charge des antibiotiques	Diureses critiques (zones)	CMI critiques (µg/ml)
Amoxicilline	2000 µg	10-12	1-2
Amoxicilline	2000 µg	18-21	2-3
Amoxicilline	2000 µg	22-24	3-4
Amoxicilline	2000 µg	26-28	4-5
Amoxicilline	2000 µg	30-32	5-6
Amoxicilline	2000 µg	34-36	6-7
Amoxicilline	2000 µg	38-40	7-8
Amoxicilline	2000 µg	42-44	8-9
Amoxicilline	2000 µg	46-48	9-10
Amoxicilline	2000 µg	50-52	10-11
Amoxicilline	2000 µg	54-56	11-12
Amoxicilline	2000 µg	58-60	12-13
Amoxicilline	2000 µg	62-64	13-14
Amoxicilline	2000 µg	66-68	14-15
Amoxicilline	2000 µg	70-72	15-16
Amoxicilline	2000 µg	74-76	16-17
Amoxicilline	2000 µg	78-80	17-18
Amoxicilline	2000 µg	82-84	18-19
Amoxicilline	2000 µg	86-88	19-20
Amoxicilline	2000 µg	90-92	20-21
Amoxicilline	2000 µg	94-96	21-22
Amoxicilline	2000 µg	98-100	22-23
Amoxicilline	2000 µg	102-104	23-24
Amoxicilline	2000 µg	106-108	24-25
Amoxicilline	2000 µg	110-112	25-26
Amoxicilline	2000 µg	114-116	26-27
Amoxicilline	2000 µg	118-120	27-28
Amoxicilline	2000 µg	122-124	28-29
Amoxicilline	2000 µg	126-128	29-30
Amoxicilline	2000 µg	130-132	30-31
Amoxicilline	2000 µg	134-136	31-32
Amoxicilline	2000 µg	138-140	32-33
Amoxicilline	2000 µg	142-144	33-34
Amoxicilline	2000 µg	146-148	34-35
Amoxicilline	2000 µg	150-152	35-36
Amoxicilline	2000 µg	154-156	36-37
Amoxicilline	2000 µg	158-160	37-38
Amoxicilline	2000 µg	162-164	38-39
Amoxicilline	2000 µg	166-168	39-40
Amoxicilline	2000 µg	170-172	40-41
Amoxicilline	2000 µg	174-176	41-42
Amoxicilline	2000 µg	178-180	42-43
Amoxicilline	2000 µg	182-184	43-44
Amoxicilline	2000 µg	186-188	44-45
Amoxicilline	2000 µg	190-192	45-46
Amoxicilline	2000 µg	194-196	46-47
Amoxicilline	2000 µg	198-200	47-48
Amoxicilline	2000 µg	202-204	48-49
Amoxicilline	2000 µg	206-208	49-50
Amoxicilline	2000 µg	210-212	50-51
Amoxicilline	2000 µg	214-216	51-52
Amoxicilline	2000 µg	218-220	52-53
Amoxicilline	2000 µg	222-224	53-54
Amoxicilline	2000 µg	226-228	54-55
Amoxicilline	2000 µg	230-232	55-56
Amoxicilline	2000 µg	234-236	56-57
Amoxicilline	2000 µg	238-240	57-58
Amoxicilline	2000 µg	242-244	58-59
Amoxicilline	2000 µg	246-248	59-60
Amoxicilline	2000 µg	250-252	60-61
Amoxicilline	2000 µg	254-256	61-62
Amoxicilline	2000 µg	258-260	62-63
Amoxicilline	2000 µg	262-264	63-64
Amoxicilline	2000 µg	266-268	64-65
Amoxicilline	2000 µg	270-272	65-66
Amoxicilline	2000 µg	274-276	66-67
Amoxicilline	2000 µg	278-280	67-68
Amoxicilline	2000 µg	282-284	68-69
Amoxicilline	2000 µg	286-288	69-70
Amoxicilline	2000 µg	290-292	70-71
Amoxicilline	2000 µg	294-296	71-72
Amoxicilline	2000 µg	298-300	72-73
Amoxicilline	2000 µg	302-304	73-74
Amoxicilline	2000 µg	306-308	74-75
Amoxicilline	2000 µg	310-312	75-76
Amoxicilline	2000 µg	314-316	76-77
Amoxicilline	2000 µg	318-320	77-78
Amoxicilline	2000 µg	322-324	78-79
Amoxicilline	2000 µg	326-328	79-80
Amoxicilline	2000 µg	330-332	80-81
Amoxicilline	2000 µg	334-336	81-82
Amoxicilline	2000 µg	338-340	82-83
Amoxicilline	2000 µg	342-344	83-84
Amoxicilline	2000 µg	346-348	84-85
Amoxicilline	2000 µg	350-352	85-86
Amoxicilline	2000 µg	354-356	86-87
Amoxicilline	2000 µg	358-360	87-88
Amoxicilline	2000 µg	362-364	88-89
Amoxicilline	2000 µg	366-368	89-90
Amoxicilline	2000 µg	370-372	90-91
Amoxicilline	2000 µg	374-376	91-92
Amoxicilline	2000 µg	378-380	92-93
Amoxicilline	2000 µg	382-384	93-94
Amoxicilline	2000 µg	386-388	94-95
Amoxicilline	2000 µg	390-392	95-96
Amoxicilline	2000 µg	394-396	96-97
Amoxicilline	2000 µg	398-400	97-98
Amoxicilline	2000 µg	402-404	98-99
Amoxicilline	2000 µg	406-408	99-100

Formulaire de CMI (FICHE DE C.M.I.) de l'Institut Pasteur d'Algérie. Informations patient: NOM: X2, PHENOM: X2, AGE: ... TRAITEMENT ATB RECU: E. coli, Amoxicilline. RESULTATS DE LA CMI: ATCC 25922: 8 µg/ml cdc (2-8); Souche (exemple): 2 µg/ml S.