

# Travaux pratique d'agents antimicrobien



ZENATI Fatima

Université ABOU BEKR  
BELKAÏD

Faculté des SNV - STU

email : [f\\_zenati@yahoo.com](mailto:f_zenati@yahoo.com)

1.0

2710212024

# Table des matières

## I - TP3 :Antibiogramme et détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

3

1. Objectif spécifique .....	3
2. Quelques définitions Deux notions sont à connaître avant de faire un antibiogramme .....	4
2.1. La concentration minimale inhibitrice ou CMI .....	4
2.2. La concentration minimale bactéricide (CMB) .....	4
3. L'antibiogramme .....	5
3.1. Principe .....	5
3.2. Les étapes d'antibiogramme .....	5
4. Détermination de la C.M.I .....	7
4.1. Définition .....	7
4.2. La technique en milieu liquide (en microplaque) .....	7
<b>Abréviations</b>	<b>8</b>
<b>Références</b>	<b>9</b>
<b>Webographie</b>	<b>10</b>

# I TP3 :Antibiogramme et détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

Le choix de l'antibiotique est réalisé de manière très empirique dans la plupart des infections banales débutantes : le médecin prescrit, en fonction de l'examen clinique, la molécule dont l'efficacité lui paraît la plus probable (antibiothérapie dite probabiliste). Ce n'est que dans les infections graves, récidivantes ou les échecs thérapeutiques que l'on fait appel au laboratoire qui réalisera une culture et un antibiogramme. Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture, l'action de molécules antibiotiques sur une souche bactérienne. Il donnera donc des indications sur l'efficacité In vitro de ces antibiotiques

## 1. Objectif spécifique

### *Fondamental*

- La mise en évidence de la sensibilité des souches bactériennes vis à vis des antibiotiques par antibiogramme
- Détermination de CMI sur micro-plaque
  - Examiner les résultats obtenus selon les normes CA-SFM puis les discuter

## **2. Quelques définitions Deux notions sont à connaître avant de faire un antibiogramme**

### **2.1. La concentration minimale inhibitrice ou CMI**

Définie en milieu liquide, qui explore la bactériostase, correspond à la plus faible concentration d'antibiotique (habituellement exprimée en mg/L) inhibant toute croissance bactérienne visible macroscopiquement, les conditions de culture étant standardisées. Cette CMI peut

également être déterminée en milieu solide.

### **2.2. La concentration minimale bactéricide (CMB)**

Explore la bactéricidie et est définie par la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle le nombre de colonies bactériennes, obtenues par repiquage sur milieu solide des tubes sans croissance visible lors de la détermination de la CMI, est inférieur à 99,99 % de l'inoculum de départ. La CMB n'est pas utilisée au quotidien(1)\*

## 3. L'antibiogramme

### 3.1. Principe

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Pétri. Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante(2)\*.

### 3.2. Les étapes d'antibiogramme

#### Méthode

---

##### ***Milieu pour antibiogramme***

- le milieu adéquate doit être coulé en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4 mm.
- les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

##### ***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.

-Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac Ferland ou à une D.O.\* de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm. L'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable.

##### ***L'ensemencement***

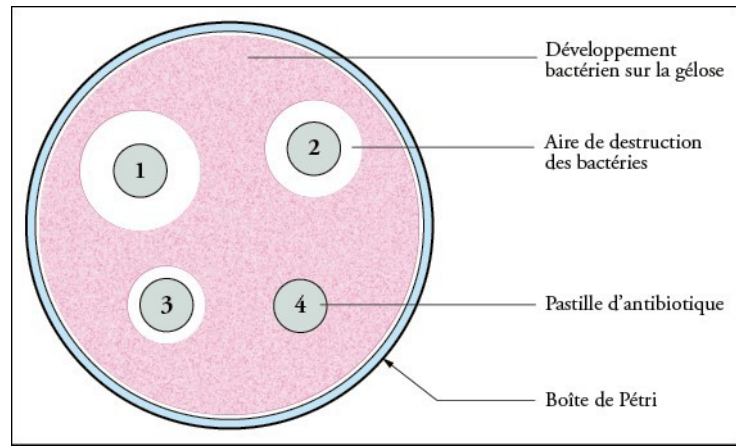
-Ensemencer la gélose Mueller-Hinton par un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne ; l'opération est répétée deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et de passer l'écouvillon sur la périphérie de

la gélose.

-Appliquer les disques d'antibiotiques sur la gélose à l'aide d'un distributeur de disques en pressant sur chaque disque à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de leur application.

##### ***Incubation***

-Incuber les boîtes pendant 18-24 heures à 37 °C dans une atmosphère normale



*figure :antibiogramme*

## 4. Détermination de la C.M.I

### 4.1. Définition

#### Définition

La CMI est par définition la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne. Dans des conditions standardisées elle est exprimée en mg/l ou µg/ml. (Archambaud, 2000)

Il existe plusieurs méthodes pour déterminer la CMI :

- Les techniques en milieu liquide (en tube, en microplaque).
- La technique en milieu solide gélose

### 4.2. La technique en milieu liquide (en microplaque).

#### Méthode

Des microplaques à fond en U (plaque à microtitration) sont utilisées pour la détermination des CMI.

Une plaque à 96 puits permet la détermination de la CMI de 8 antibiotiques vis-à-vis de la même souche.

-Dans les cupules des colonnes 1 à 12, introduire à l'aide d'une micropipette 50µl de bouillon BHIB.

-Introduire 50µl de la solution d'antibiotique à la concentration de 256µg/ml dans la cupule 1

Reporter de cupule en cupule de 1 à 12 à l'aide d'une micropipette 50µ du mélange ; des dilutions sont ainsi possibles et les concentrations finales obtenues vont être de 128 à 0.0625µg/ml.

-Ajouter 50µl d'inoculum.

La lecture de la CMI est fondée sur l'appréciation visuelle du dépôt de culture observé sur les parois du fond de la cupule (Duret et al., 1978).

La CMI d'antibiotique correspond à la plus basse concentration sans culture dans le puits visuellement déterminée

#### **Remarque**

$$c = \frac{M}{V}$$

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

# Abréviations

**D.O.** : Densité Optique



# Références

*wikipedia*

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Antibiogramme>

# Webographie

[https://aemip.fr/?page\\_id=3762](https://aemip.fr/?page_id=3762)