

Antibiogramme en médecine vétérinaire

COLLOQUE REGIONAL ILE-DE-FRANCE
ANTIBIORESISTANCE/ANTIBIOTHERAPIE RESPONSABLE

10/10/2019



HJBoulouis
Biopole Alfort ENVA

- Introduction
- Techniques d'antibiogramme
- Lecture et interprétation
- Limites
- Conclusion



Introduction

- . Objectif : Déterminer, pour une souche pure de bactérie identifiée, sa sensibilité ou non aux antibiotiques *in vitro*
 - > *CMI ou diamètres d'inhibition*
- . Intérêts : clinique et épidémiologique
- . Réglementation : Arrêté du 18 mars 2016 fixant la liste des substances antibiotiques d'importance critique et fixant la liste des méthodes de réalisation du test de détermination de la sensibilité des souches bactériennes

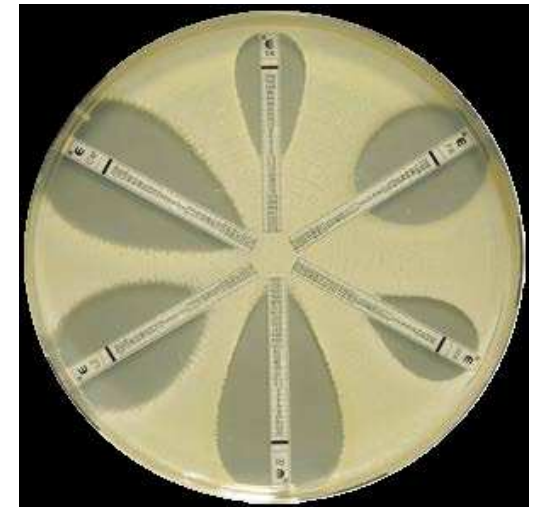
Techniques

- Les différentes techniques
 - Antibiogramme par techniques automatisées, colorimétrique,...
 - Antibiogrammes donnant une CMI



Techniques

- ▶ / mesure directe de la CMI
 - dilution en milieu gélosé : Norme NF U47-106
 - Dilution en milieu liquide
 - E-test®
- ▶ / mesure indirecte de la CMI
 - méthode de diffusion en gélose : Norme NF U47-107
 - ...



Introduction

Techniques

Lecture

Limites

Conclusion

Techniques

Antibiogramme en milieu liquide



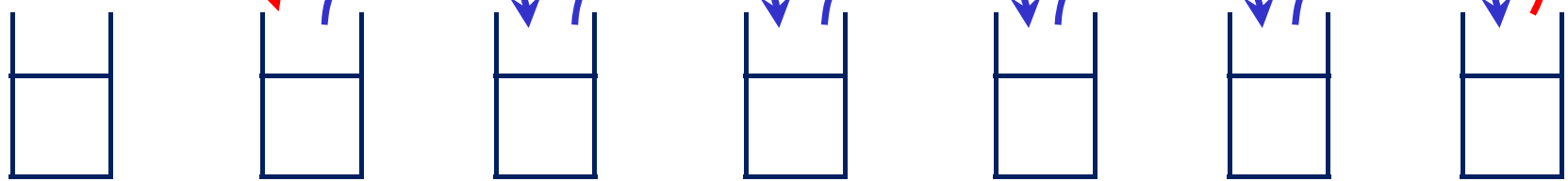
Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé : norme NFU 47-107

Détermination directe de la CMI

Antibiotique 400 mg/L (mL)

0,5 0,5 0,5 0,5 0,5 0,5 0,5

Bouillon MH (mL)



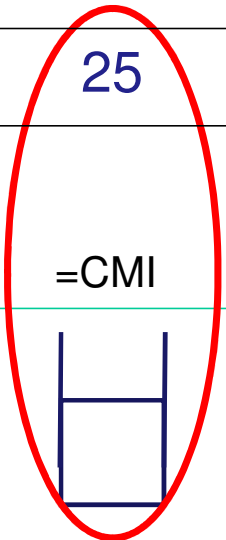
0,5 0,5 0,5 0,5 0,5 0,5 0,5

Inoculum bactérien (mL)

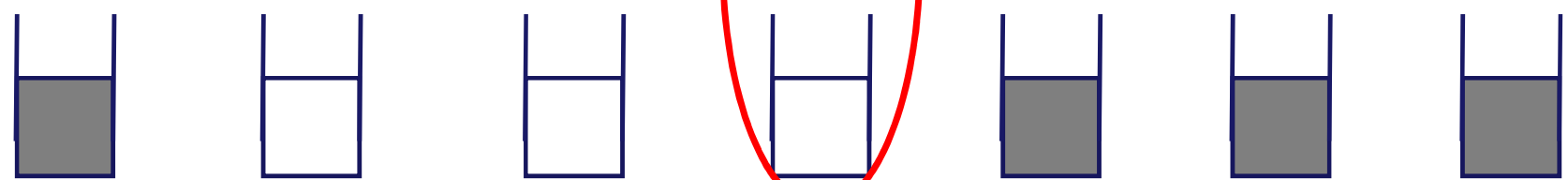
0,5 0,5 0,5 0,5 0,5 0,5 0,5

Concentration ATB (mg/L)	0	100	50	25	12.5	6.25	3.125
--------------------------	---	-----	----	----	------	------	-------

Incubation



Résultats



Techniques

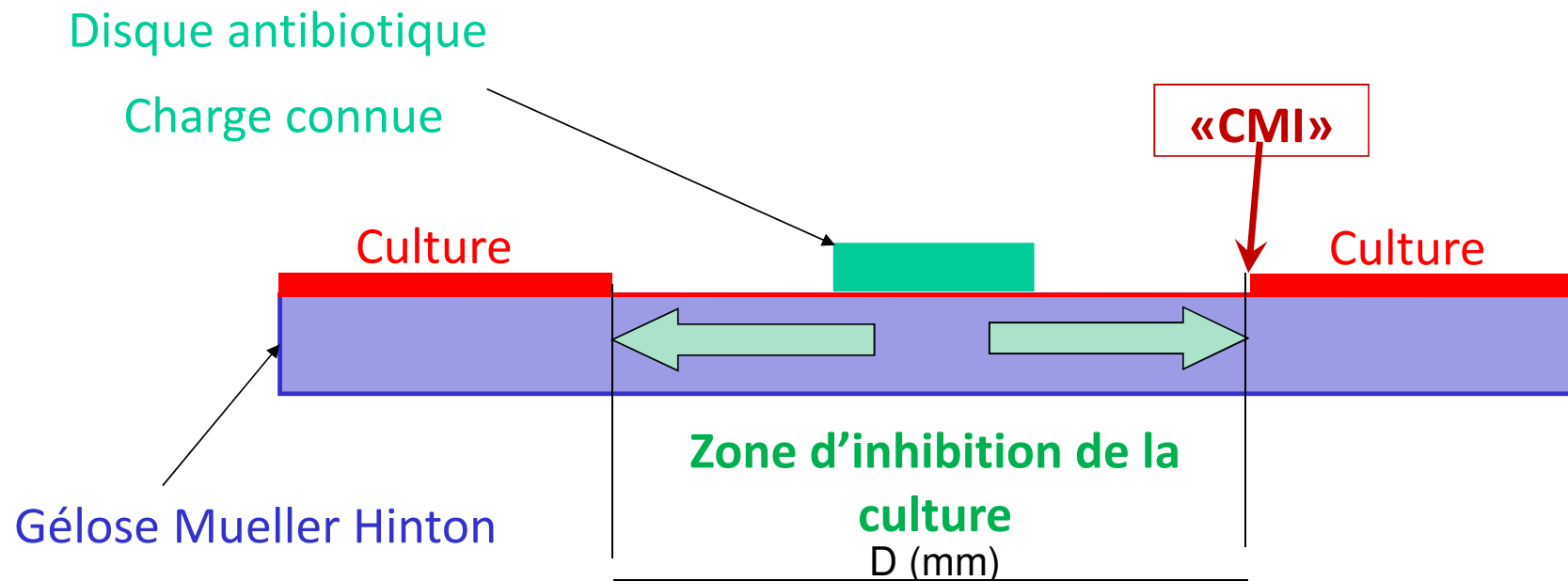
Antibiogramme en milieu liquide

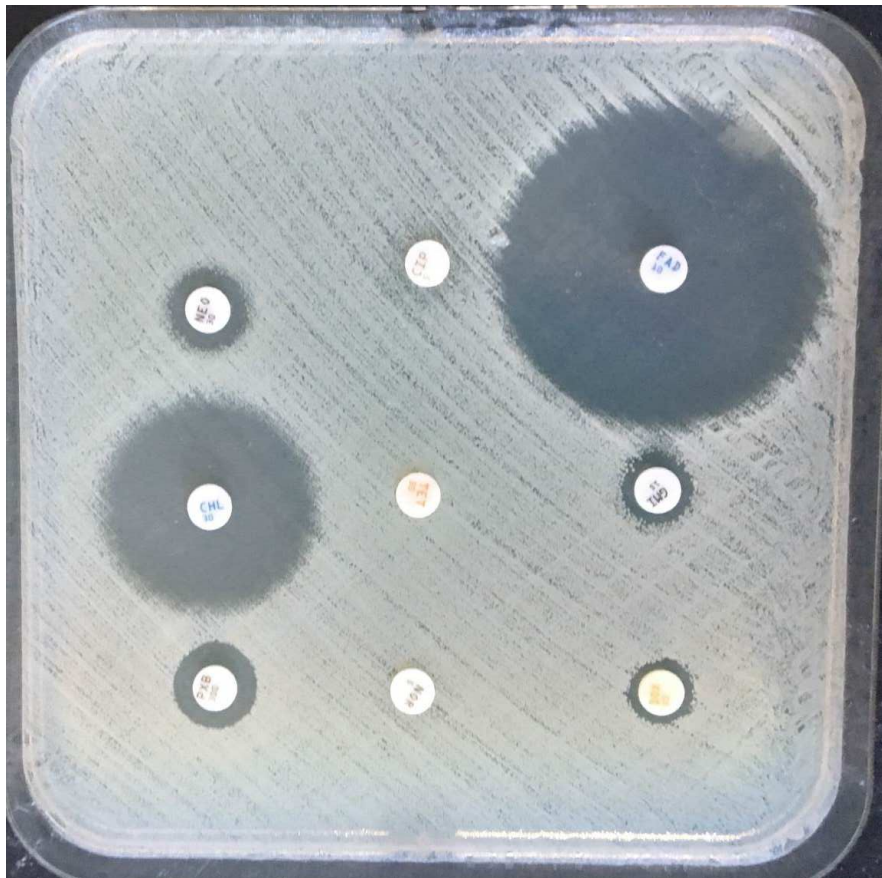
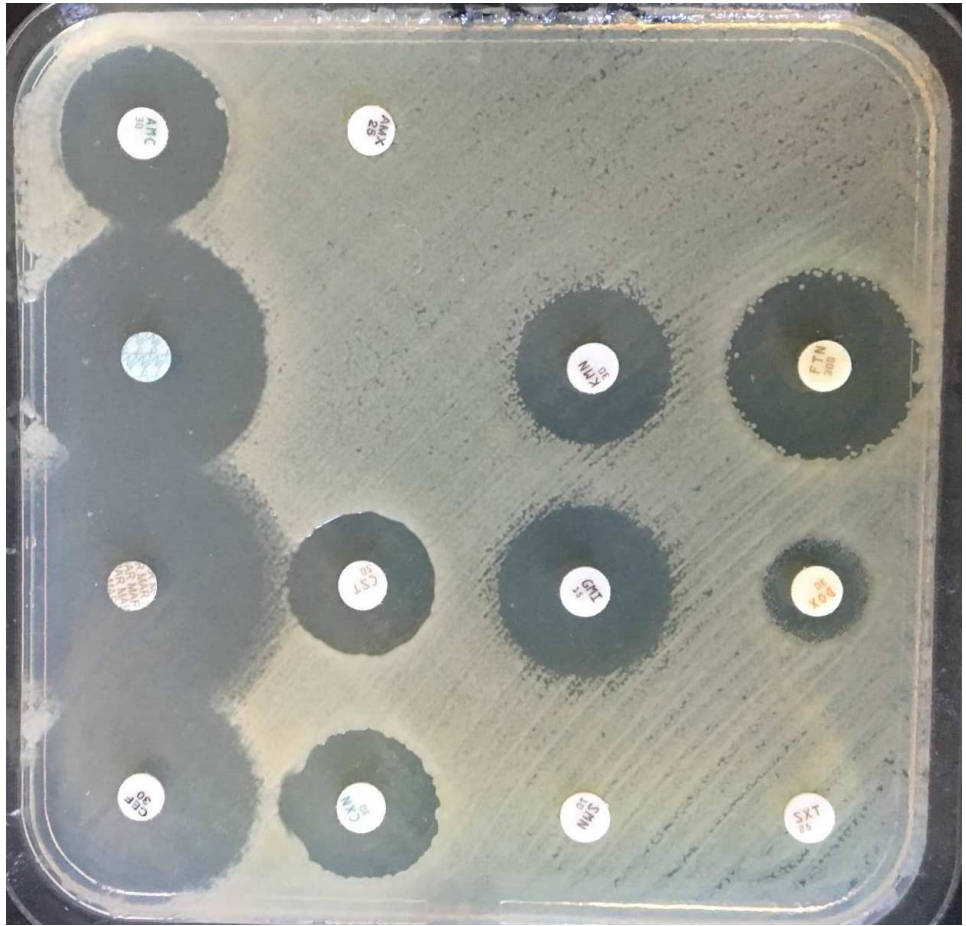
Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé : norme NFU 47-107

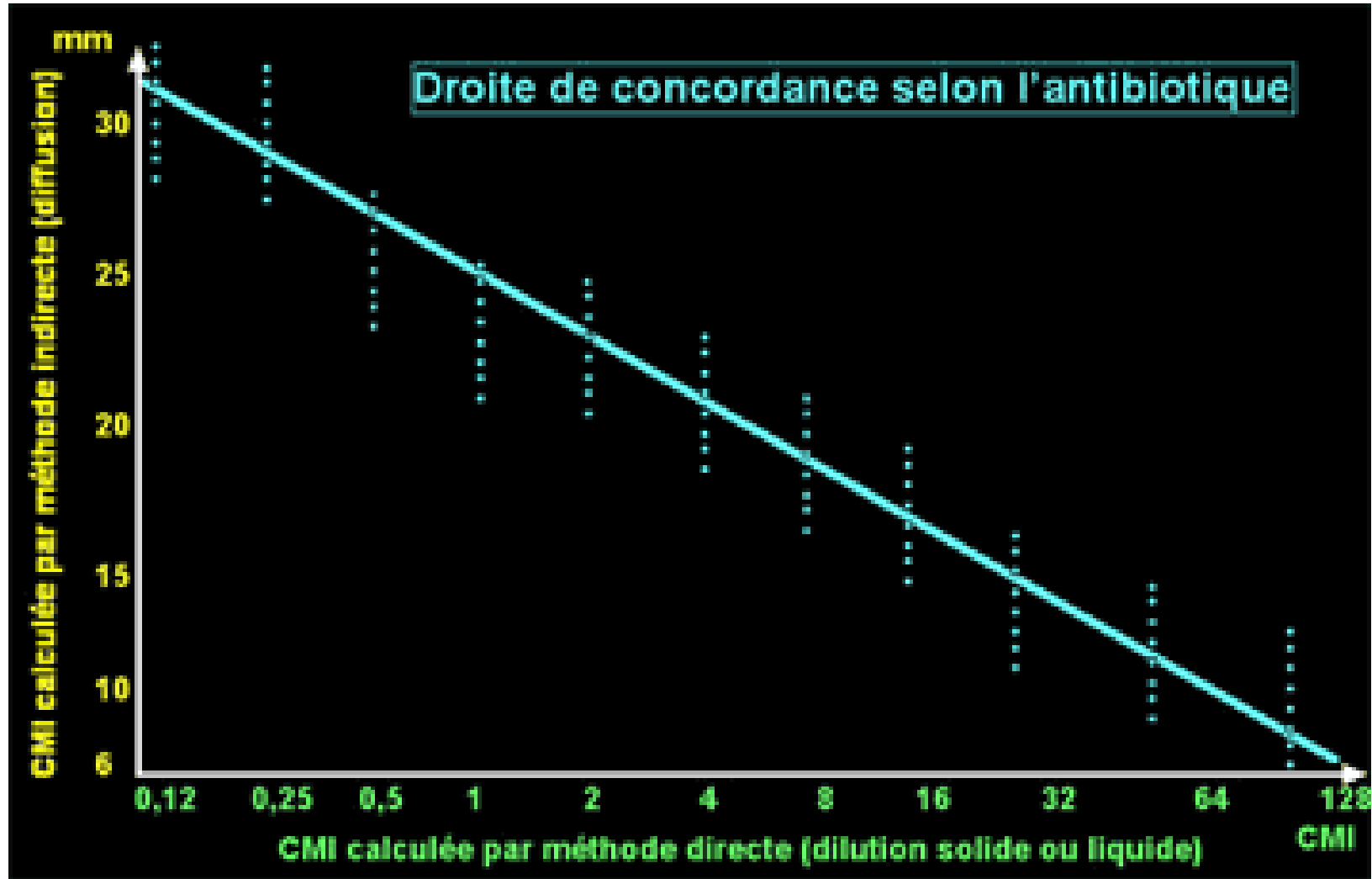


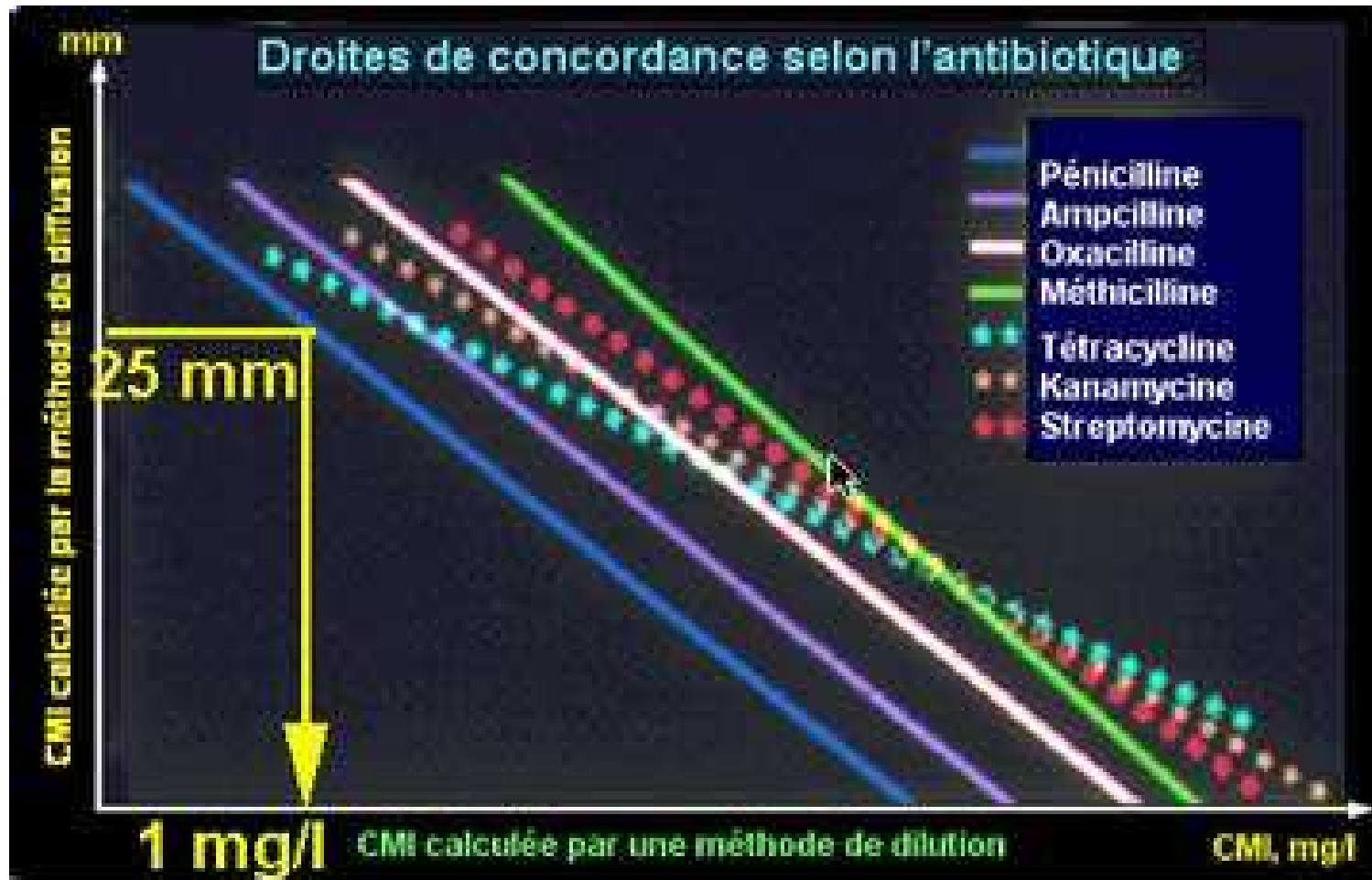
Antibiogramme par diffusion

Inoculation par étalement en surface de la gélose









Facteurs influençant les résultats

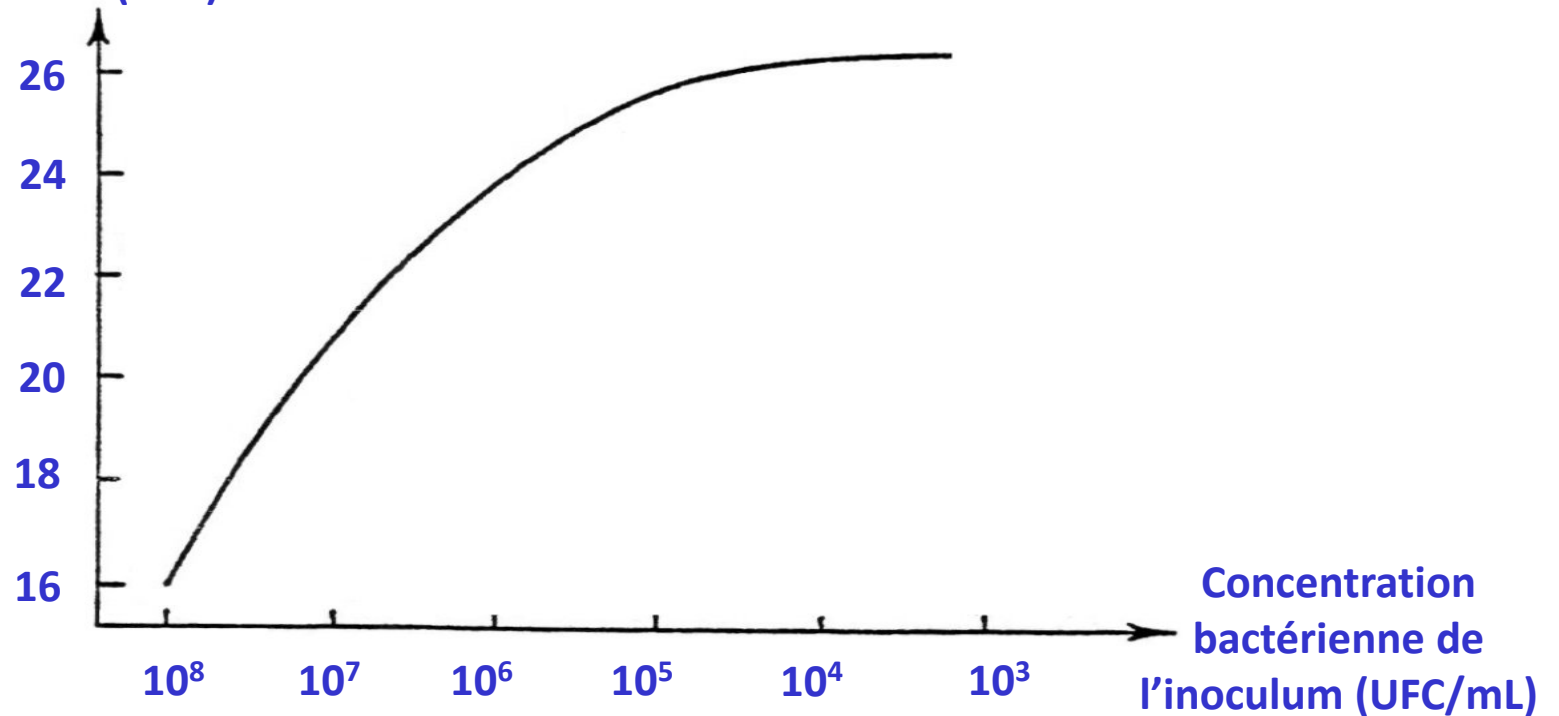
- Facteurs influençant la diffusion de l'antibiotique :
 - Epaisseur de la gélose
 - Concentration en agar
 - Taille et charge du disque

Facteurs influençant les résultats

- Facteurs influençant l'activité de l'antibiotique :
 - Concentrations ioniques du milieu (Ca^{2+} , Mg^{2+})
 - pH du milieu
 - Concentration de l'inoculum bactérien
 - Pré-incubation / Pré-diffusion

Influence de l'inoculum

Diamètre d'inhibition (mm)



Aspect de la culture
après 18h d'incubation

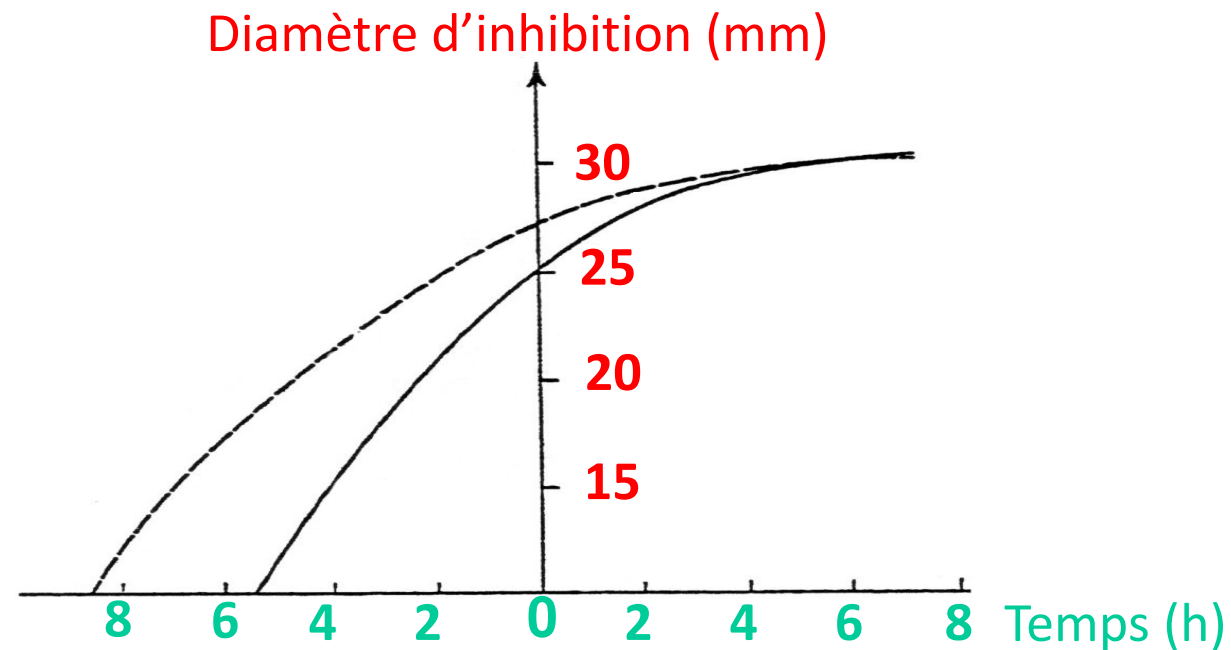


Nappe

Colonies
tangentes

Colonies
isolées

Influence Pré-incubation / Pré-diffusion



Pré-incubation : retard au dépôt
des disques

Pré-diffusion : retard à
l'incubation

Selon le Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (<http://www.sfm.asso.fr/nouv/general.php?pa=2>)

- Milieu Mueller Hinton
- Epaisseur 4 mm
- Inoculum permettant d'obtenir des colonies adjacentes mais non confluentes
- Incubation 18-24 heures à 37°C
- Pré-diffusion = Pré-incubation

- Contrôle de qualité interne avec souches de référence
 - *Staphylococcus aureus* CIP76.25
 - *Escherichia coli* CIP 76.24
 - *Streptococcus uberis* CIP 103219
 - *Pasteurella multocida* CIP 103286

Expression des résultats

- Notion de Concentrations critiques
- Traduction clinique

Concentrations critiques

Les Concentrations critiques :

Concentrations de référence minimale (c) et maximale (C) permettant de classer les souches bactériennes dans des catégories cliniques (S, I ou R) en fonction de leur CMI

Les concentrations critiques sont fixées par :

- CA-SFM (Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie)/ **Section vétérinaire**
- EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)/
VetCAST
- CLSI

Les valeurs critiques : les 5 critères pris en compte par le comité vétérinaire du CLSI

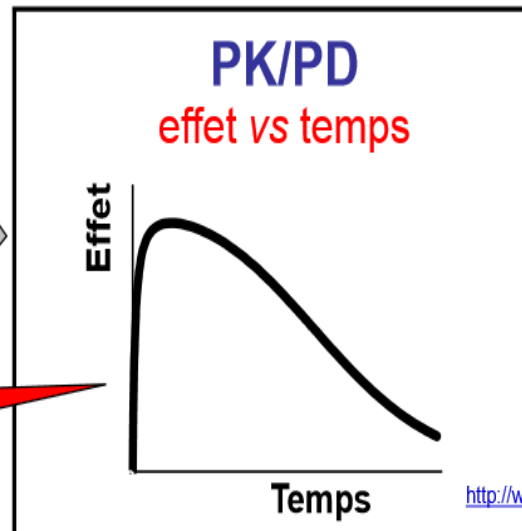
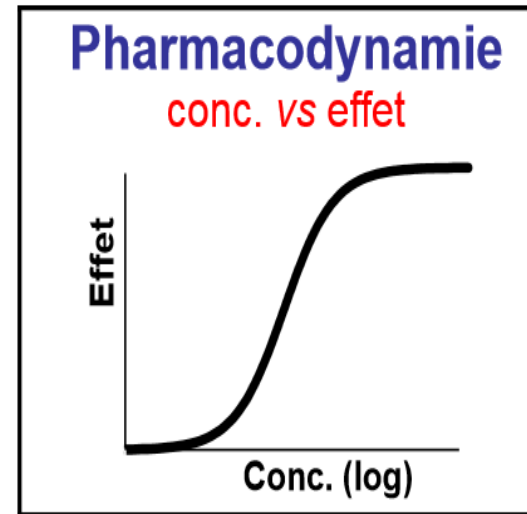
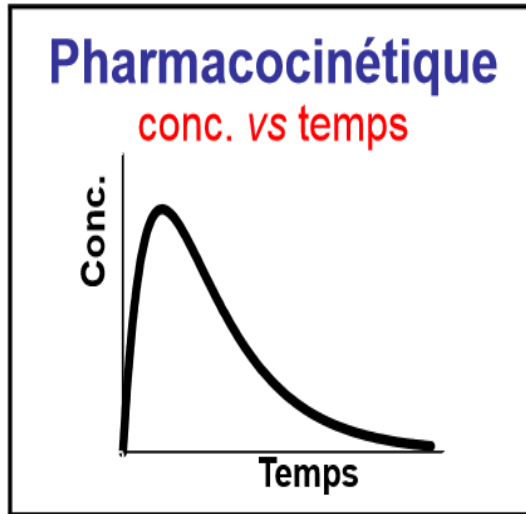
1. Le pathogène en question
2. L'antibiotique
3. La maladie
4. L'espèce animale
5. La posologie de l'antibiotique (dose, voie d'administration, fréquence d'administration et durée du traitement)

Concentrations critiques

➤ **Concentrations critiques déterminées par des :**

- **Etudes pharmacologiques** : concentrations en ATB moyennes minimales (c) et maximales (C) obtenues dans le plasma, et les tissus ; PK/PD

Pharmacocinétique / Pharmacodynamique



ce que vous (et le patient) souhaitez

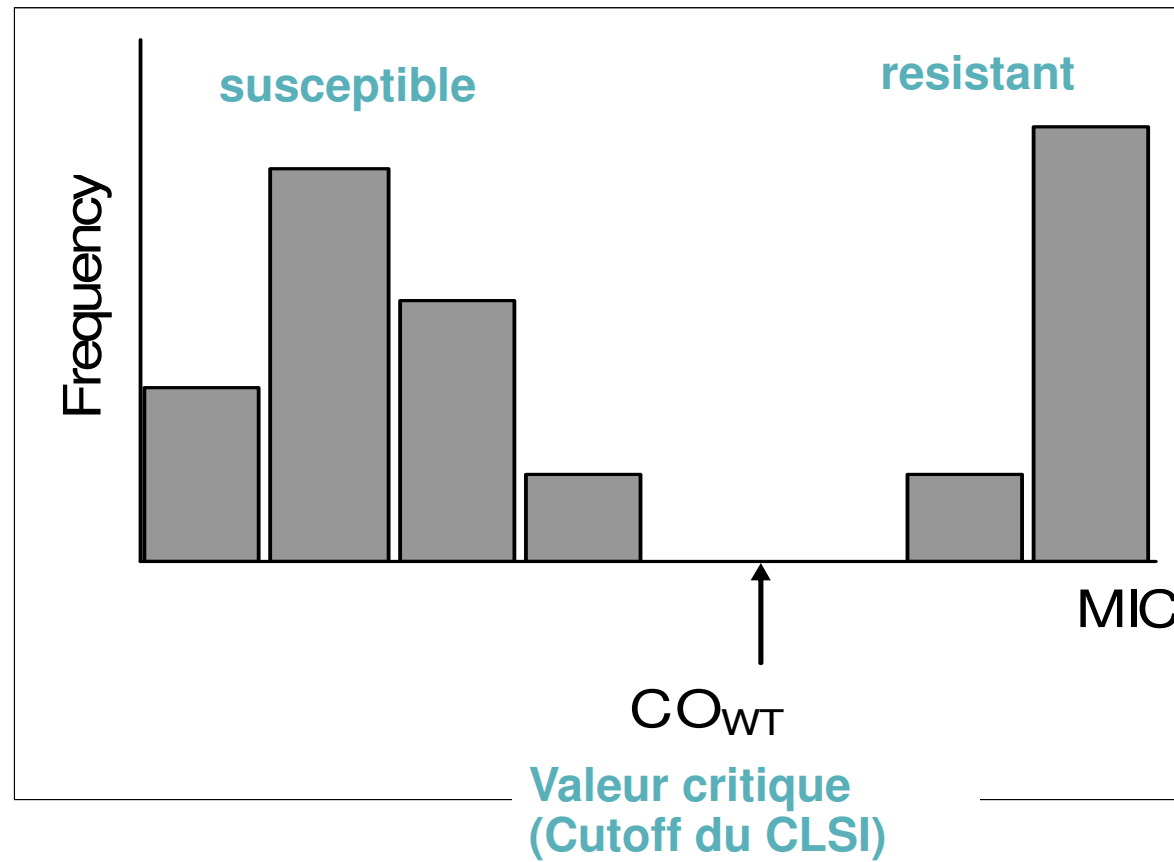
<http://www.antiinfectieux.org/antiinfectieux/PLG/PLG-PK-PD.htm>
(adapté de Derendorf, 2002)

Concentrations critiques

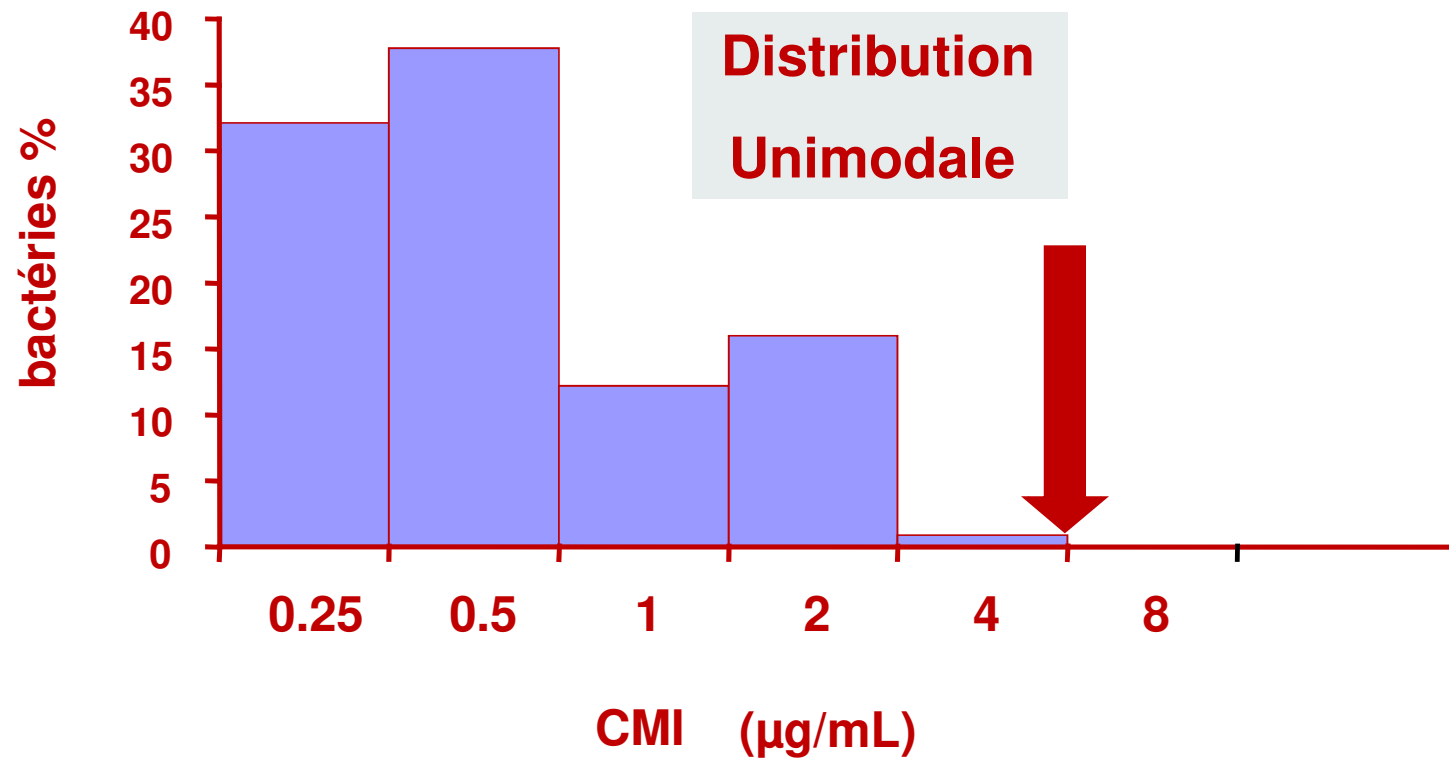
➤ **Concentrations critiques déterminées par des :**

- **Etudes pharmacologiques** : concentrations en ATB moyennes minimales (c) et maximales (C) obtenues dans le plasma, et les tissus ; PK/PD
- **Etudes bactériologiques** : distribution des CMI
- **Etudes cliniques** : confrontation des CMI estimées *in vitro* et des résultats thérapeutiques

Distribution bimodale



Distribution unimodale





Société Française
de Microbiologie

**Comité de l'antibiogramme
de la
Société Française de
Microbiologie**

**RECOMMANDATIONS VÉTÉRINAIRES
2019**

Concentrations critiques

➤ c et C déterminées par des:

~~- **Etudes pharmacologiques** : concentrations en ATB moyennes minimales (c) et maximales (C) obtenues dans le plasma, et les tissus ; PK/PD~~

- **Etudes bactériologiques** : distribution des CMI

~~- **Etudes cliniques** : confrontation des CMI estimées *in vitro* et des résultats thérapeutiques~~

Catégorisation clinique :

- ▶ **S** = forte probabilité de succès thérapeutique aux posologies recommandées et si administration systémique
 - CMI \lll conc. *in vivo*
- ▶ **R** = forte probabilité d'échec thérapeutique indépendamment de la dose et de la voie d'administration
 - CMI \gg conc. *in vivo*
- ▶ **I** = succès thérapeutique imprévisible
 - (Susceptible pour des posologies augmentées)

Recommandations du CF de l'antibiogramme/ Section vétérinaire

Lecture interprétative

- > pour certaines entérobactéries : profils évocateurs de BLSE ou d'hyperproduction de céphalosporinases
- > résistance pour un membre de la famille extensible à d'autres membres (Enrofloxacin>Marbo. Dano./ Tétracycline> Oxy et Chlor
- > colistine
- > oxacilline, cefovecine/ MRSP

Limites de l'antibiogramme en médecine vétérinaire

- Interprétable si les normes de réalisations sont suivies
- Catégorisation issue de données épidémiologiques

Introduction

Techniques

Lecture

Limites

Conclusion

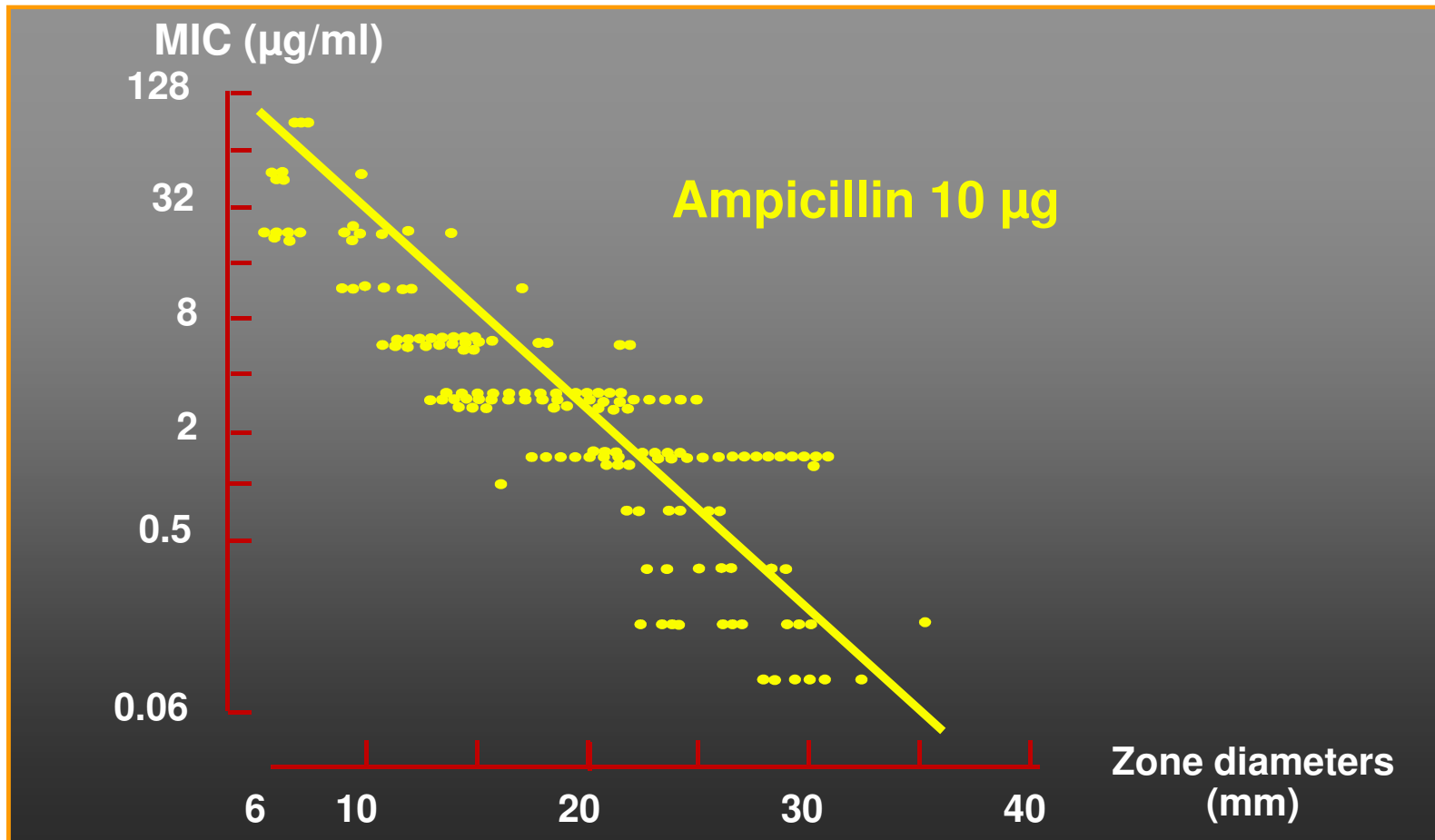
La règle des 90-60%

- Pour de nombreuses infections, il a été montré que le pourcentage de succès clinique était de 90% pour les germes déclarés sensibles et de 60% pour les germes déclarés résistants

Limites de l'antibiogramme en médecine vétérinaire

- Interprétable si les normes de réalisations sont suivies
- Catégorisation issue de données épidémiologiques
- ABG réalisé sur souches pures/ hétérogénéité des souches dans un prélèvement

Droite de concordance



Limites de l'antibiogramme en médecine vétérinaire

- Interprétable si les normes de réalisations sont suivies
- Catégorisation issue de données épidémiologiques
- ABG réalisé sur souches pures/ hétérogénéité des souches dans un prélèvement
- ABG réalisé sur souche planctonique/ mais biofilm (X1000 la CMI)

Conclusion

- ABG outil pour une antibiothérapie raisonnée
- ABG obligatoire dans le cas d'utilisation d'AB d'importance critique
- En connaître les limites