



E. LOPEZ <sup>(1)</sup>, E. PRETSEILLE <sup>(1)</sup>, C. CUREL <sup>(1)</sup>, J.C. GHASSIA <sup>(2)</sup>  
<sup>(1)</sup> Société i2a, Montpellier, France - <sup>(2)</sup> Unité de Bactériologie, LBM du CH de Versailles, Le Chesnay, France

## RÉSUMÉ

■ **Objet de l'étude :** Le système INOCLIC pour la préparation et la standardisation de l'inoculum bactérien et le milieu rapide MHR-SIR ont été testés pour la réalisation d'antibiogrammes d'entérobactéries. Notre étude a été effectuée avec soixante-trois souches cliniques d'entérobactéries, présentant différents mécanismes de résistance selon 3 méthodes

### ■ Méthodes :

3 groupes différents :

Groupe A : Inoculum à 0,5 McFarland sur milieu MH classique  
 Groupe B : Inoculum en méthode Inoclic sur milieu MH classique  
 Groupe C : Inoculum en méthode inoclic sur milieu MHR-SIR (i2a, Montpellier).

Deux méthodes différentes de standardisation de l'inoculum : méthode de référence Eucast et méthode Inoclic (i2a, Montpellier, France) ; avec deux milieux de cultures différents (milieu Mueller-Hinton «classique» et milieu rapide MHR-SIR).

### ■ Résultats obtenus :

Les résultats obtenus sur Mueller-Hinton avec la méthode à 0,5 Mc Farland (Groupe A) et la méthode Inoclic (Groupe B) sont comparables à ceux obtenus selon les normes de l'Eucast : la concordance des résultats est de 99,55%. Le coefficient de corrélation entre les deux méthodes est de 0,9740.

Avec le milieu MHR-SIR et le système Inoclic (Groupe C), après 6 heures d'incubation par rapport aux résultats obtenus avec le milieu Mueller-Hinton classique et selon les normes de l'Eucast, la concordance des résultats est de 96,87%.

## MATÉRIEL & MÉTHODE

♦ L'Inoclic est un système conçu pour préparer et standardiser l'inoculum de l'antibiogramme en milieu solide directement à partir d'une culture bactérienne.

L'Inoclic est une tige calibrée qui collecte une quantité déterminée de bactéries correspondant à la charge souhaitée d'inoculum pour l'antibiogramme en milieu solide.

L'utilisation de l'inoclic est très simple : l'opérateur pique une colonie à angle droit sur la gélose, la traverse, et retire ensuite l'Inoclic en faisant le mouvement inverse.

Des colonies de même morphologie peuvent être piquées à partir de la surface ; les éléments des colonies prélevées sont ensuite mis en suspension dans un tube contenant 0,7 ml d'eau physiologique pour se conformer aux exigences de l'Eucast en matière de charge bactérienne.

♦ Soixante-trois souches cliniques d'entérobactéries présentant différents mécanismes de résistance ont été utilisées pour comparer l'antibiogramme réalisé à partir de la méthode Inoclic selon les normes de l'Eucast.

Les suspensions bactériennes ont été ensemencées sur les géloses à l'aide d'un écouvillon SirScanSwab (i2a, Montpellier)

Pour chaque suspension, un antibiogramme a été réalisé sur un milieu MH (i2a, Montpellier) comprenant 28 disques d'antibiotiques : Ampicilline 10µg, Amoxicilline 20µg + Acide Clavulanique 10µg, Aztréonam 30µg, Amikacine 30µg, Acide Nalidixique 30µg, Céfépime 30µg, Ceftazidime 30µg, Céfotaxime 30µg, Ceftriaxone 30µg, Cefpodoxime 10µg, Céfoxitine 30µg, Céfuroxime-Axetil 30µg, Ciprofloxacine 5µg, Ertapénème 10µg, Furanes 100µg, Gentamicine 10µg, Impénème 10µg, Lévofloxacine 5µg, Méropénème 10µg, Nétilmicine 30µg, Norfloxacine 10µg, Ofloxacine 5µg, Pipéracilline 30µg, Pipéracilline 30µg + Tazobactam 6µg, Ticarcilline 75µg, Tobramycine 10µg, Tétracycline 30UI, Triméthoprime 1,25µg + Sulfamides 23,75µg.

### ■ Méthode :

Les antibiogrammes ont aussi été réalisés sur des milieux MHR-SIR (i2a, Montpellier).

MHR-SIR est un milieu contenant une base Mueller-Hinton, permettant d'obtenir des résultats d'antibiogrammes en 6 heures. L'utilisation de l'inoclic est obligatoire pour réaliser l'inoculum d'un antibiogramme fait sur MHR-SIR.

La lecture du MHR-SIR doit être faite à l'aide d'un lecteur automatique SirScan ; le lecteur utilise un algorithme afin d'analyser si la croissance du micro-organisme est suffisante et un système expert qui vérifie la fiabilité de la lecture.

Le lecteur incubateur automatique SirScan 2000 Automatique a été utilisé pour réaliser l'incubation et la lecture des diamètres d'inhibition de tous les antibiogrammes réalisés. (Fig 1)

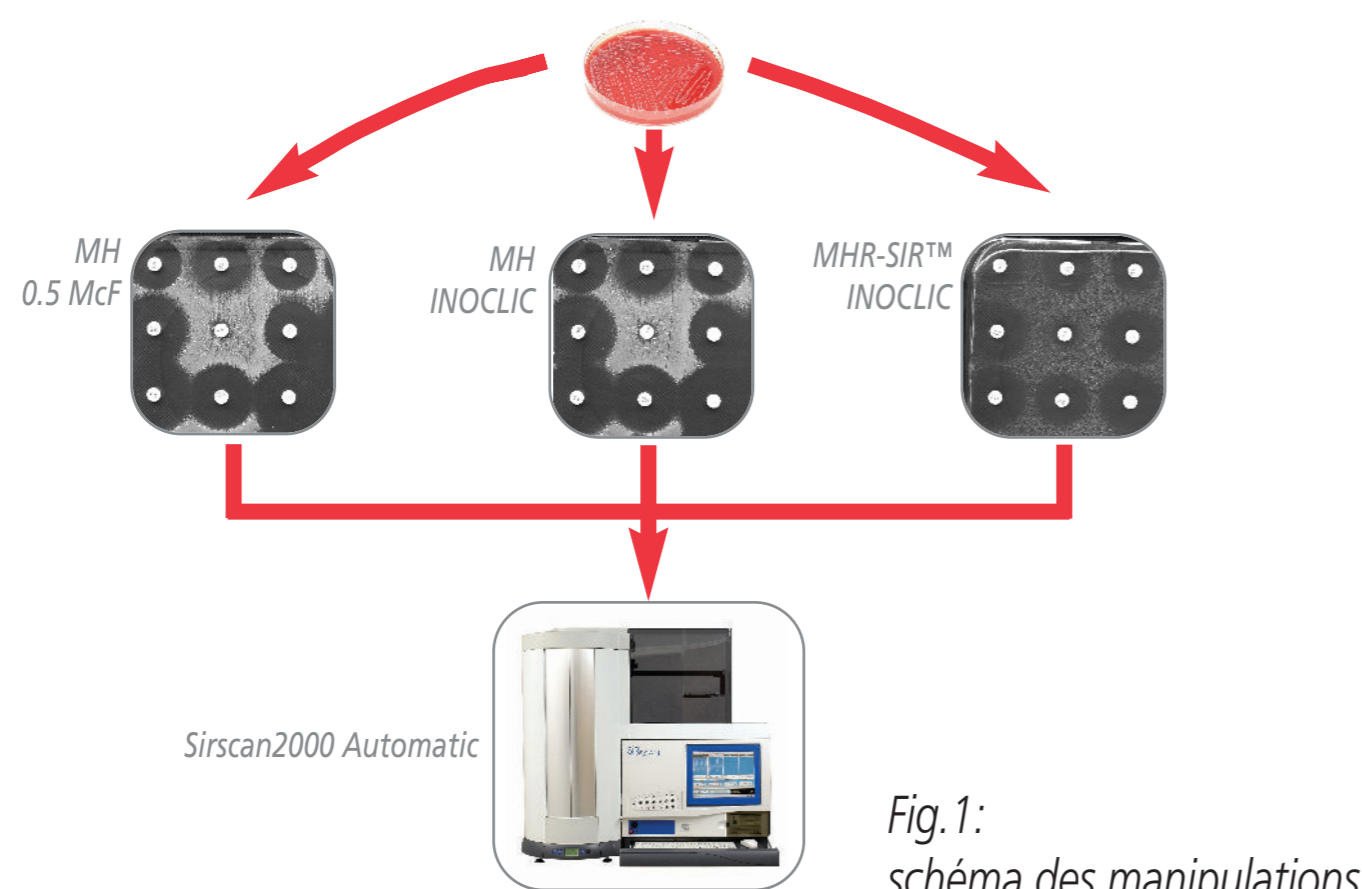


Fig.1 : schéma des manipulations

### ♦ Traitement des données :

Pour ce faire, nous avons utilisé un tableur Excel et défini trois types de discordances :

« Différence mineure » : a été utilisé quand une molécule était catégorisée « sensible » par une méthode et « Intermédiaire » par l'autre méthode ; ou « Intermédiaire » par une méthode et « Résistante » par l'autre méthode.

« Différence majeure » a été utilisé quand une molécule était catégorisée « Résistante » avec l'inoclic ou le milieu MHR-SIR, et « sensible » avec la méthode de l'Eucast ou le milieu MH.

« Différence très majeure » a été utilisé quand une molécule était catégorisée « Sensible » avec l'inoclic ou le milieu MHR-SIR et « Résistante » avec la méthode de l'Eucast ou le milieu MH.

## CONCLUSION

**Compte tenu des résultats observés, l'utilisation du système Inoclic sur le milieu MHR-SIR pour la préparation et la standardisation de l'inoculum pour l'antibiogramme d'entérobactéries peut être recommandée en pratique quotidienne.**

## RÉSULTATS :

1- Comparaison de l'Inoclic avec la méthode Eucast : Les diamètres d'inhibition des 28 disques antibiotiques pour les 63 souches d'entérobactéries testées ont été mesurés avec les deux méthodes.

Pour les 1764 diamètres d'inhibition obtenus, le coefficient de corrélation des diamètres s'élevait à 0,9740 (Fig 2). Nous avons observé 0,11 % de « Différence mineure », aucune « Différence majeure », 0,34 % de « Différence très majeure » et 99,55 % de concordance entre l'Inoclic et la méthode de référence.

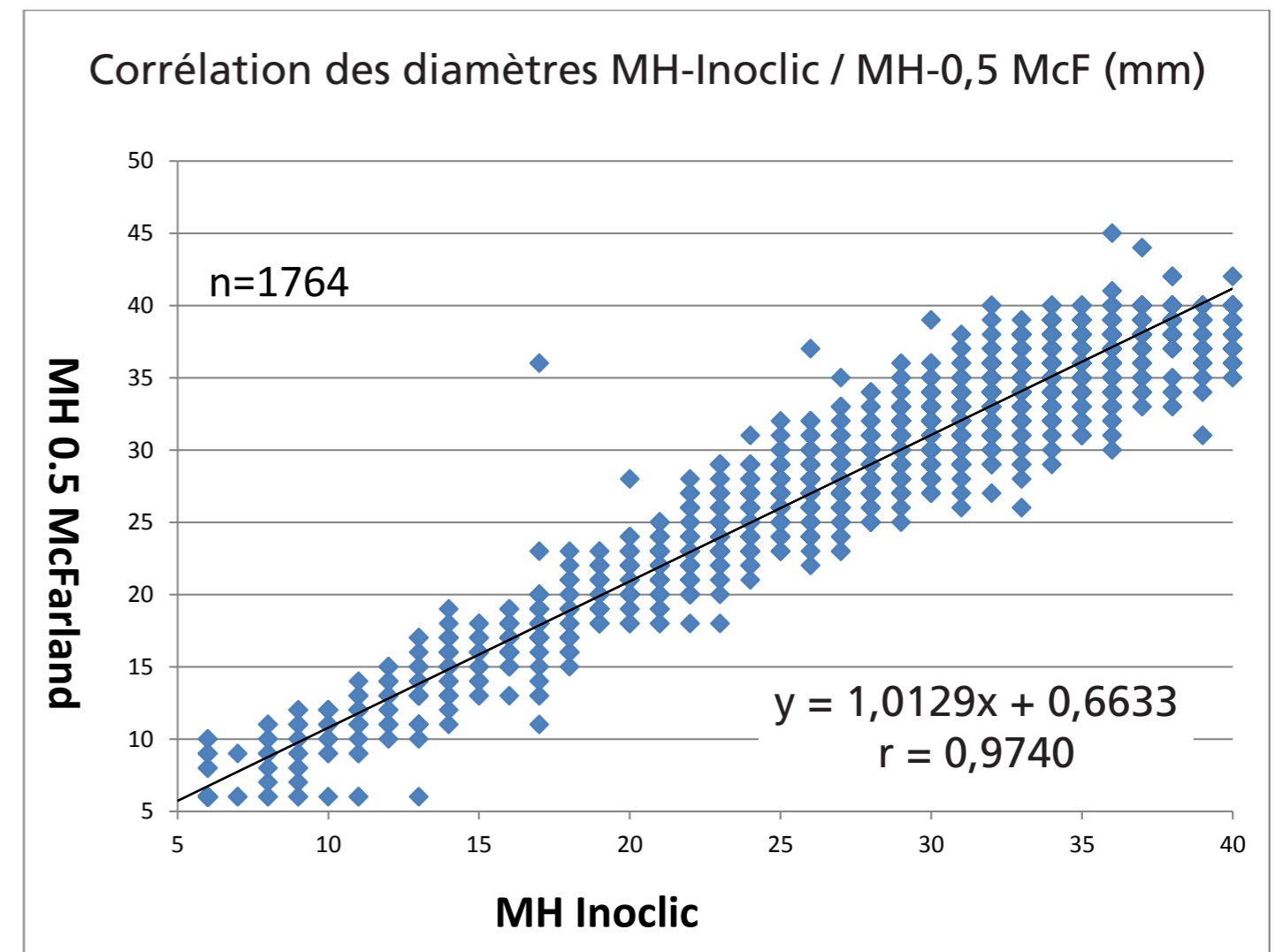


Fig. 2 : Corrélation entre les diamètres d'inhibition obtenus avec l'Inoclic (axe des abscisses) et la méthode Eucast (axe des ordonnées). Le coefficient de corrélation R = 0,9740.

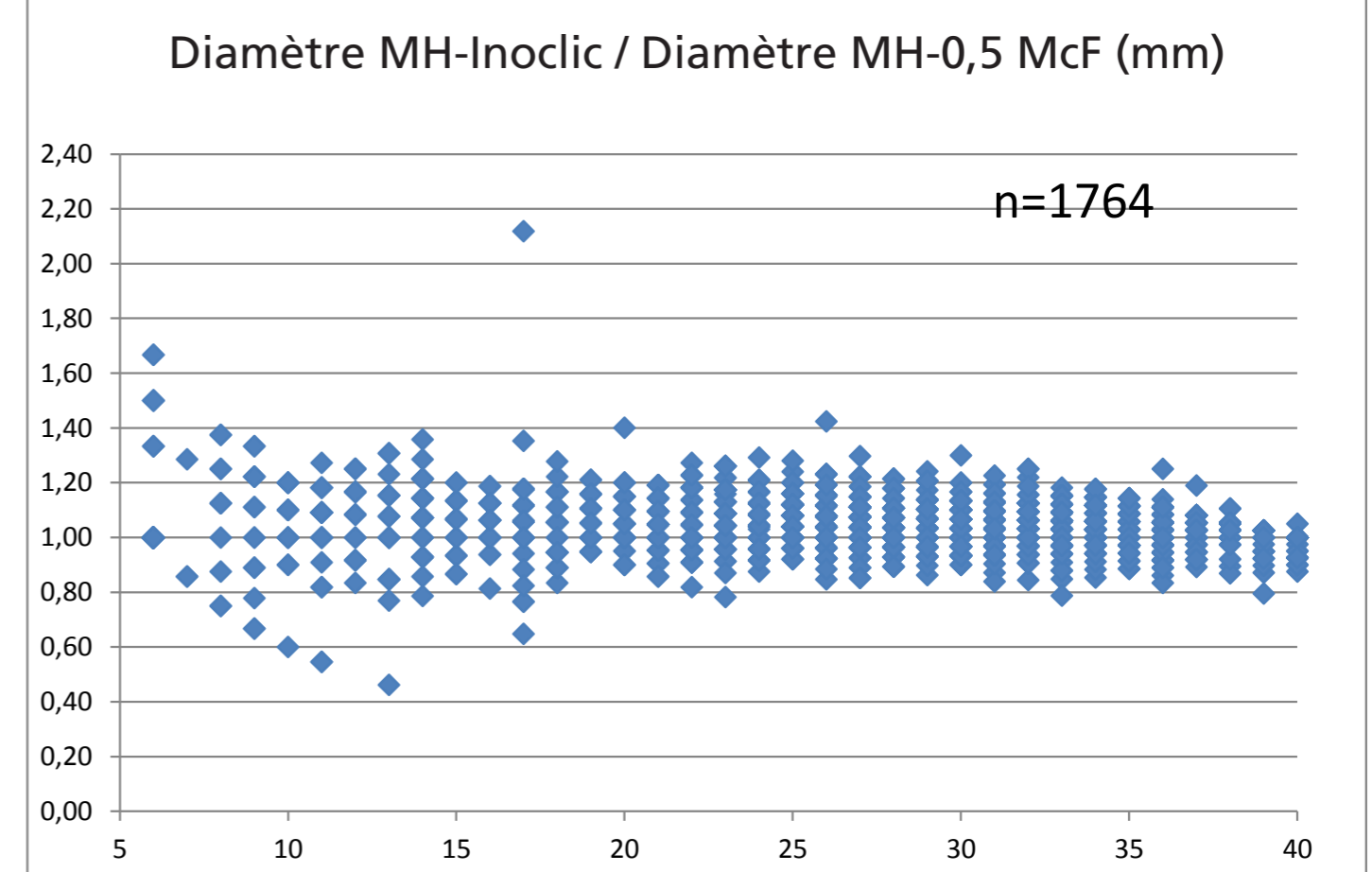


Fig. 3 : Diagramme des ratios entre les résultats obtenus avec la méthode Inoclic et la méthode Eucast 0,5 McF. L'axe des abscisses représente les valeurs des diamètres d'inhibition et l'axe des ordonnées le ratio entre les deux méthodes. Chaque point correspond au ratio valeur obtenue par Inoclic / valeur obtenue par 0,5 McF.

2- Comparaison des antibiogrammes obtenus avec un milieu MH et un milieu MHR-SIR.

Pour les antibiogrammes réalisées en milieu rapide MHR-SIR Inoclic, après 6h d'incubation, nous avons observé 1,87 % de « Différence mineure », 0,64 % de « Différence majeure », 0,68 % de « Différence très majeure » et 96,83 % de concordance avec les résultats obtenus avec la méthode Eucats sur milieu MH (milieu MH-0,5 McF après 18h d'incubation).

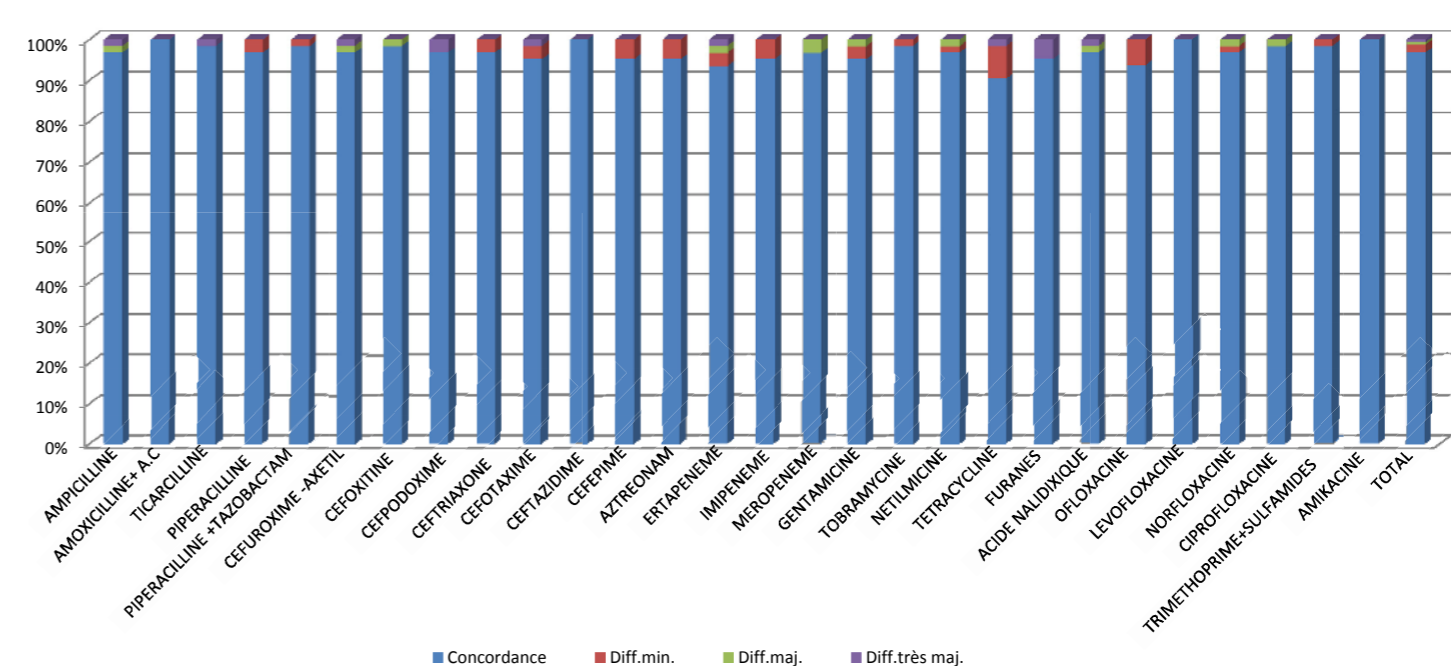


Fig. 4 Résultats de la corrélation entre les antibiogrammes réalisés sur MHR-SIR après 6h d'incubation et MH après 18h d'incubation. Les différentes molécules testées sont représentées sur l'axe des abscisses et le pourcentage de corrélation est représenté en ordonnées.

## DISCUSSION :

Le système Inoclic donne des résultats équivalents à la méthode recommandée par l'Eucast pour la préparation et la standardisation de l'inoculum des antibiogrammes d'entérobactéries en milieu MH. Ce système étant simple et rapide d'utilisation, il peut être utilisé en pratique quotidienne. D'autre part, avec le milieu MHR-SIR, les résultats sont en excellente corrélation avec ceux obtenus avec la méthode standard Eucast sur le milieu MH. Ces résultats obtenus après seulement 6h d'incubation contribuent à accélérer la prise en charge thérapeutique du patient.

**Bibliographie :** ■ 1-Ros A. et al. (1999) Comparison of the use of a cost effective method with Two Standardized methods to direct performance and repeatable susceptibility testing in a Microbiological laboratory. Poster 9th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases ■ 2-Honderlick P, Baheux S, Vignon D, Ghnassia JC, (2004) Practical application of internal quality control year for susceptibility testing using agar sirscan2000 automatic. International Journal of Antimicrobial Agents 2004, 24S page S190 ■ 3-Recommandations 2012 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) ■ 4-Abello K. et al. (2003) Evaluation d'un milieu rapide pour l'antibiogramme en diffusion, le MHR-SIR (i2a). Poster 23ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse ■ 5-Leyssene D. et al. (2012) Evaluation of a new inoculum standardization device and a fast susceptibility testing medium for Staphylococcus aureus antimicrobial susceptibility testing. Poster 112th general meeting of the American Society of Microbiology ■ Recommandations de l'EUCAST : www.eucast.org