



www.smamm.ma

*Société Marocaine de
Microbiologie Médicale*

S. M. A. M. M.

Comité de l'antibiogramme

Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Méthode de diffusion en gélose

Version 1.0

02 décembre 2016

Sommaire	Page
Contexte général	3
Recommandation nationales	3
Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	4
1. Préparation des milieux de culture	4
2. Milieux de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et conditions d'incubation	5
3. Préparation de l'inoculum pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques	5
4. Zones d'inhibition et catégorisation clinique	9
Entérobactéries	9
<i>Pseudomonas spp</i>	13
<i>Acinetobacter spp</i>	15
<i>Staphylococcus spp</i>	16
<i>Enterococcus spp</i>	19
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	21

Contexte général

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé humaine. Elle atteint désormais des proportions dangereuses dans toutes les régions du monde. Nombreux nouveaux mécanismes de résistance ont vu le jour et se sont propagés à l'échelle mondiale, compromettant notre capacité de traiter les maladies infectieuses les plus courantes.

L'épidémiologie variable de cette résistance bactérienne aux antibiotiques impose la mise en place d'une surveillance continue et régulière de l'écologie microbienne en milieu hospitalier et communautaire.

Dans cette optique, il est indispensable de mettre en place à l'échelle nationale un programme de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques ciblant les pathogènes spécifiques qui permettent de surveiller les tendances à l'échelle nationale quant à l'emploi des antibiotiques et à l'émergence de la résistance aux antibiotiques chez certaines bactéries.

Pour cela, une harmonisation des techniques de l'antibiogramme et de la liste des antibiotiques testés est une étape incontournable dans cette surveillance pour pouvoir recueillir des données complètes, homogènes et comparables à l'échelle nationale.

L'objectif principal de cette harmonisation est de permettre d'assurer une surveillance à l'échelle nationale de la sensibilité des bactéries responsables des maladies prioritaires en santé publique au Maroc, vis à vis des différents antibiotiques utilisés et d'aider à l'optimisation de l'utilisation des antibiotiques.

Les résultats de cette surveillance constitueront une étape obligatoire dans la lutte contre ce phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Ce qui permettra d'élaborer des consensus thérapeutiques, de faire des recommandations pour l'antibiothérapie probabiliste et de contribuer à établir les profils épidémiologiques des différentes infections bactériennes.

Recommandation nationales

La Société Marocaine de Microbiologie a créé un comité national de l'antibiogramme ([CA-SMAM](#)). Ce comité est chargé de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques avec des recommandations relatives aux conditions de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques par diffusion en gélose ainsi qu'une liste minimale des antibiotiques à tester pour les principales familles bactériennes notamment : *Entérobactéries*, *Staphylocoques*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Entérocoque* et *Streptococcus pneumoniae*.

Une liste complémentaire est également proposée pour ces familles bactériennes. Les recommandations proposées sont basées sur les dernières recommandations de Comité de l'Antibiogramme de la Société française de Microbiologie (CA- SFM EUCAST) et de l'EUCAST.

I. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

1. Préparation des milieux de culture

Les milieux gélosés peuvent être achetés prêts à l'emploi dans le commerce ou être préparés localement selon les recommandations des fabricants.

Préparation des géloses

- 1 Préparer et stériliser à l'autoclave la gélose Mueller-Hinton (MH) en fonction des recommandations du fabricant
- 2 Ramener la température à 42-45°C
- 3 Pour préparer la gélose MH au sang, ajouter stérilement 50 mL de sang de mouton par litre de milieu
Bien agiter et répartir immédiatement
- 4 Répartir le milieu dans les boîtes de Petri stériles de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm \pm 0.5 mm (soit environ 25 mL par boîte de Petri de 90 mm de diamètre, 40 mL par boîte de Petri carrée de 120 mm)
- 5 Laisser la gélose prendre avant de déplacer les boîtes
- 6 La surface de la boîte doit être sèche avant utilisation

Conservation des boites

- 1 Conserver les boîtes de Petri dans des sachets en plastique ventilés à 8-10°C. Si les boîtes de Petri doivent être conservées plus de 7 jours, il existe une alternative qui consiste à les conserver à 4-8°C, en sachet plastique scellé
- 2 En cas de fabrication au laboratoire, les conditions de séchage, de conservation des boîtes et de durée de vie à la paillasse devront être déterminées dans le cadre du programme d'assurance qualité
- 3 Les boîtes achetées dans le commerce seront conservées selon les indications du fabricant et employées avant la limite de péremption

Contrôle de qualité

- 1 Employer une électrode de contact ou autre méthode pour vérifier que le pH se situe entre 7,2 et 7,4
- 2 Contrôler l'épaisseur de la gélose $4 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$
- 3 Vérifier que le milieu permet une bonne croissance de(s) souche(s) du contrôle de qualité proposées
- 4 Vérifier que les diamètres des zones d'inhibition sont bien dans les limites requises pour chacune des associations antibiotique/bactérie

2. Milieux de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et conditions d'incubation

Milieu de détermination de la sensibilité des bactéries proposées aux antibiotiques et conditions d'incubation		
Famille bactérienne	Milieu	Conditions d'incubation
Entérobactéries	Gélose de Mueller-Hinton	$35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aérobiose 16 à 24 h
Staphylocoques	Gélose de Mueller-Hinton	$35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aérobiose 16 à 24 h
<i>Pseudomonas</i>	Gélose de Mueller-Hinton	$35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aérobiose 16 à 24 h
<i>Acinetobacter</i>	Gélose de Mueller-Hinton	$35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aérobiose 16 à 24 h
Entérocoques	Gélose de Mueller-Hinton	$35 \pm 2^\circ\text{C}$ en aérobiose 16 à 24 h
Streptocoques	Gélose MH-S *	$35 \pm 2^\circ\text{C}$ en présence de 4 à 6% CO ₂ en aérobiose 16 à 24 h

* MH + 5% sang de mouton

3. Préparation de l'inoculum pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Préparation de l'inoculum

- 1 A partir d'une culture visible réalisée sur milieu non sélectif, réaliser une suspension bactérienne en solution salée pour atteindre une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland.

Pour ce faire, prélever plusieurs colonies de même morphologie (si possible) afin d'éviter de sélectionner un variant atypique. Mettre ces colonies en suspension en milieu salé avec une öse stérile.

Cette technique, qui reprend les recommandations EUCAST, et qui ne répond certainement pas à certaines situations d'urgence, n'exclut pas la possibilité de réalisation d'un antibiogramme direct sur la primo-culture sans repiquage pour les prélèvements (LCR, Hémoculture...) réalisés dans des situations d'urgence. (Un groupe de travail se penche actuellement sur la faisabilité de réalisation d'un antibiogramme directement sur les flacons d'hémoculture).

- 2 La suspension bactérienne est standardisée à l'aide du témoin 0,5 McFarland. Un inoculum lourd engendre des diamètres plus petits et inversement.
- 3 Il est recommandé d'employer un spectrophotomètre pour ajuster l'inoculum. Cet appareil doit être calibré contre un étalon de la gamme de McFarland selon les recommandations du fabricant.
- 4 On peut également comparer à l'œil nu la turbidité de la suspension bactérienne à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland. Dans ce cas agiter vigoureusement l'étalon de turbidité sur un Vortex® avant usage (certains étalons commerciaux sont gélifiés et ne doivent pas être agités ; suivre les recommandations du fabricant).
Pour faciliter la comparaison des deux échantillons, se placer face à un fond blanc avec des lignes noires.
- 5 Pour *S. pneumoniae*, on préfère partir d'une gélose au sang et atteindre McFarland 0,5.
- 6 Pour ajuster la densité bactérienne au tube 0,5 McFarland, ajouter soit la solution salée soit les bactéries.

Préparation de l'étalon de turbidité McFarland 0,5

Ajouter 0,5 mL d'une solution à 0,048 mol/L de BaCl₂ (1,175% p/v BaCl₂·2H₂O) à 99,5 mL d'une solution 0,18 mol/L (0,36 N) de H₂SO₄ (1% v/v) et agiter vigoureusement.

Vérifier la densité de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre avec un faisceau de 1 cm et des cuvettes assorties. L'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13.

Distribuer la suspension dans des tubes de même taille que ceux utilisés pour ajuster l'inoculum.
Sceller les tubes.

Une fois scellés, conserver ces tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Avant usage, mélanger vigoureusement le tube à l'aide d'un Vortex

Renouveler l'étalon ou vérifier son absorbance après 6 mois de conservation.

Il convient de vérifier les étalons achetés dans le commerce en s'assurant que l'absorbance se situe dans les limites fixées.

Inoculation des géloses

- 1 L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min qui suivent sa préparation. Son emploi doit être fait au plus tard dans les 60 min qui suivent sa préparation.
- 2 Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en le pressant sur les parois du tube. Il est important de rejeter l'excès de liquide pour éviter une sur-inoculation des boîtes, en particulier pour les bactéries à Gram négatif.
- 3 Ecouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.

Déposer les disques. Si les boîtes sont abandonnées à la température du laboratoire trop longtemps avant le dépôt des disques, la bactérie peut commencer à croître conduisant à une fausse diminution de la taille des zones d'inhibition.

Dépôt des disques imprégnés d'antibiotiques

- 1 Les charges des disques sont indiquées sur la liste minimale des antibiotiques proposés
- 2 Déposer les disques fermement à la surface de la gélose inoculée et séchée. Le contact avec la surface doit être étroit. Les disques une fois déposés ne peuvent être déplacés car la diffusion des antibiotiques est très rapide.
- 3 Un maximum de six disques convient pour les boîtes de 90 mm de diamètre et seize pour les boîtes carrées de 120 mm de côté.

Conserver les disques, y compris ceux en cartouches dans des conteneurs fermés avec un dessiccateur et à l'abri de la lumière (les fluoroquinolones sont inactivées en cas d'exposition prolongée à la lumière)

Pour éviter la condensation, laisser les disques revenir à la température ambiante avant d'ouvrir les cartouches.

Ne pas utiliser de disques périmés.

Conserver les disques selon les recommandations du fabricant.

Incubation des boîtes de pétri

- 1 Retourner les boîtes et les incuber idéalement dans les 15 min qui suivent le dépôt des disques, sans dépasser 30 min. Si elles sont abandonnées à température ambiante après dépôt des disques, la pré-diffusion des antibiotiques engendrera des zones d'inhibition faussement agrandies.
- 2 Incuber les boîtes comme indiqué dans les conditions d'incubation

Lecture des boîtes après incubation

- 1 Un inoculum et un ensemencement corrects doivent conduire à une culture confluyente.
- 2 La culture doit être répartie sur toute la surface de la gélose de façon à obtenir des zones d'inhibition circulaires.
- 3 La présence de colonies isolées indique que l'inoculum est trop faible. Refaire le test.
- 4 Vérifier que les diamètres des zones d'inhibition sont dans les limites du contrôle de qualité.

Mesure des zones d'inhibition et catégorisation clinique

- 1 La bordure de la zone d'inhibition doit être lue à l'œil nu et au niveau de la complète inhibition de la culture ; la boîte étant placée à 30 cm de l'œil.
- 2 Ne pas tenir les boîtes face à une lampe (lumière transmise) ni employer une loupe grossissante

3 Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche à l'aide d'une règle, un pied à coulisse ou un système de lecture automatisé.

Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les concentrations critiques.

Pour la détection de la résistance à la méticilline chez *S. aureus* à l'aide d'un disque de céfoxitine, mesurer la zone d'inhibition et rechercher attentivement, sous un éclairage adéquat, la présence de colonies dans la zone d'inhibition. Il s'agit probablement d'une résistance hétérogène à la méticilline.

4. Zones d'inhibition et catégorisation clinique

Entérobactéries

Méthode par diffusion en milieu gélosé

Milieu de culture : gélose Mueller-Hinton

Inoculum : 0,5 McFarland

Incubation : atmosphère normale, 35±1C, 18±2h

Lecture : mesurer les diamètres d'inhibition sur un fond noir éclairé par une lumière réfléchi.

Contrôle de qualité : Escherichia coli ATCC 25922

Tableau des concentrations critiques pour l'interprétation des zones d'inhibition

Liste Minimale			
Antibiotique	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) S ≥ - R <	Notes
Ampicilline	10	14	Certains isolats bactériens qui produisent des β-lactamases sont catégorisés «sensibles» aux céphalosporines de 3 ^{ème} et 4 ^{ème} génération et doivent être rapportés comme tels ; la présence d'une BLSE n'interfère pas sur la catégorisation de l'isolat clinique. Cependant, la détection des BLSE reste

			<p>indispensable pour des objectifs autres que thérapeutiques (épidémiologie, mesure d'hygiène et d'isolement, par exemple).</p> <p>La méthode qualitative de détection de la production d'une BLSE peut consister en l'utilisation de la méthode de la synergie entre deux disques sur l'antibiogramme standard c'est-à-dire un disque de céfotriaxone, ceftazidime et céfépime et un disque contenant de l'acide clavulanique (ex. amoxicilline + ac. clavulanique : AMC) distants de 30 mm des disques de céphalosporine. La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne ».</p>
Amoxicilline acide clavulanique	20 - 10	19 16 (Cystites)	
Céphalexine	30	14	
Cefixime	5	17	
Ceftriaxone	30	23-20	
Ou Cefotaxime	5	20-17	
Ertapénème	10	25-22	Il faut considérer comme suspecte d'EPC, toute souche de sensibilité diminuée (I /R) à au moins l'une des carbapénèmes.

			<p>L'ertapénème est le carbapénème qui possède la meilleure sensibilité pour la détection des EPC.</p> <p>La présence d'une carbapénèmase n'interfère pas sur la catégorisation de l'isolat clinique La détection des carbapénèmases est cependant recommandée sur le plan épidémiologique pour surveiller et contrôler leur diffusion</p>
Gentamicine	10	17-14	
Cotrimoxazole	1,25- 23,75	16-13	
Acide nalidixique	30	19-14	<p>La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule. Les isolats catégorisés «sensibles» à l'acide nalidixique sont catégorisés «sensibles» aux autres fluoroquinolones.</p> <p>Pour les isolats cliniques catégorisés «intermédiaires» ou «résistants» à l'acide nalidixique, des différences d'activité intrinsèque des autres fluoroquinolones impliquent un test et une réponse indépendante pour les autres fluoroquinolones.</p>
Ciprofloxacine	5	22-19	
Liste complémentaire			
Ceftazidime	10	22-19	

Cefepime	30	24 -21	
Amikacine (Usage hospitalier)	30	16-13	
Imipénème (Usage hospitalier)	10	22-16	
Levofloxacin	5	22-19	
Moxifloxacin	5	20-17	
Mecillinam (Cystites)	10	15	
Fosfomycine (Cystites)	200	16-13	
Colistine	-	-	En raison de l'absence de corrélation CMI/diamètre, il y a lieu de déterminer la CMI de la colistine par microdilution en cas d'utilisation thérapeutique.
Tigécycline (CMI)		1 – 2 mg/l	

Pseudomonas spp

Milieu : MH

Inoculum : 0,5 McFarland

Incubation : 35±2°C, 20±4H

Souche de référence : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**Tableau des concentrations critiques pour l'interprétation des zones d'inhibition**

Liste Minimale			
Antibiotique	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) S ≥ - R <	Notes
Ceftazidime	10	16	
Cefepime	30	19	
Imipénème	10	20-17	Une résistance isolée aux carbapénèmes correspond à une imperméabilité spécifique. Cette résistance n'est pas croisée avec les autres bêta-lactamines.
Meropénème	10	24-18	
Gentamicine	10	15	
Amikacine	30	18-15	
Ciprofloxacine	5	25-22	
Liste complémentaire			
Pipéracilline tazobactam	30-6	18	
Levofloxacine	5	20-17	
			Les souches qui présentent un diamètre de 6 mm autour du disque fosfomycine chargé à 200 µg sont catégorisées «résistantes».

Fosfomycine	200	Note	
Colistine	-	-	En raison de l'absence de corrélation CMI/diamètre, il y a lieu de déterminer la CMI de la colistine par microdilution en cas d'utilisation thérapeutique.

Acinetobacter spp

Méthode par diffusion en milieu gélosé

Milieu : gélose de Mueller-Hinton

Inoculum : 0,5 McFarland

Incubation : atmosphère normale, 35±1°C, 18±2h

Lecture : Mesurer les diamètres d'inhibition sur un fond noir éclairé par une lumière réfléchie.

Souche de contrôle : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Tableau des concentrations critiques pour l'interprétation des zones d'inhibition

Liste Minimale			
Antibiotique	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) S ≥ - R <	Notes
Ceftazidime	30	18-15	
Imipénème	10	23-17	
Amikacine	30	18-15	
Gentamicine	10	17	
Cotrimoxazole	1,25- 23,75	16-13	
Pipéracilline tazobactam	100/10	21-10	
Doxycycline	30	13-10	
Ciprofloxacine	5	21	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule.
Liste Complémentaire			
Méropénème	10	21-15	
Levofloxacine	5	21-18	
Colistine	-	-	En raison de l'absence de corrélation CMI/diamètre, il y a lieu de déterminer

			la CMI de la colistine par microdilution en cas d'utilisation thérapeutique.
Tigécycline	CMI	-	

Staphylococcus spp

Milieu : Mueller-Hinton

Inoculum : 0,5 McFarland

Incubation : Atmosphère normal, 35±2°C, 20±4H

Contrôle de qualité : *Staphylococcus aureus* ATCC 29213,

Tableau des concentrations critiques pour l'interprétation des zones d'inhibition

Liste Minimale			
Antibiotique	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) S ≥ - R <	Notes
Cefoxitine (Dépistage) (<i>S. aureus</i> et SCN autres que <i>S. epidermidis</i>)	30	22	La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl-pénicillines (oxacilline, cloxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg) dans les conditions standard de l'antibiogramme. Il ne doit pas être tenu compte d'une éventuelle zone fantôme pour la lecture des diamètres d'inhibition. Les souches de staphylocoques résistantes à la céfoxitine ou possédant un gène <i>mec</i> additionnel ou exprimant une PLP2 additionnelle (PLP2a, PLP2c) après induction par une bêta-lactamine, doivent être interprétées résistantes à toutes les bêta-lactamines (pénicillines

			associées ou non à un inhibiteur de bêta-lactamase, céphalosporines et carbapénèmes), sauf à la ceftaroline qui possède une activité sur les staphylocoques résistants à l'oxacilline mais dont l'activité doit être confirmée.
Cefoxitine (Dépistage) (<i>S. epidermidis</i>)	30	28	
Gentamicine (<i>S. aureus</i>)	10	18	Interprétation valable pour Nétilmicine. Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à l'ensemble des aminosides (sauf streptomycine).
Gentamicine (<i>Staphylocoque à coagulase négative</i>)	10	22	
Cotrimoxazole	1,25 – 23,75	17-14	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.
Norfloxacin	10	17	Les souches catégorisées sensibles à la norfloxacin peuvent être rendues sensibles à la ciprofloxacin, à la lévofloxacin, à la moxifloxacin et à l'ofloxacin. Pour les souches non sensibles à la norfloxacin, chaque fluoroquinolone doit être testée individuellement.
Acide fusidique	10	24	
Tétracycline	30	22-19	
Erythromycine	15	21 -18	L'érythromycine peut être utilisée pour déterminer la sensibilité à l'azithromycine, la clarithromycine et la roxithromycine.
Liste complémentaire			

Rifampicine (usage hospitalier)	5	26-23	
Minocycline	30	23-20	
Linezolide	10	19	
Fosfomycine	200	-	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. Les souches qui présentent un diamètre de 6 mm autour du disque fosfomycine chargé à 200 µg sont catégorisées «résistantes».
Vancomycine			Mesurer la CMI devant toute souche de SARM isolée ou Si une utilisation thérapeutique est envisagée Seuil : CMI 2mg /l
Teicoplanine (S.aureus)	-	-	Mesurer la CMI devant toute souche de SARM isolée ou Si une utilisation thérapeutique est envisagée Seuil : CMI 2mg/l
Teicoplanine (SCN)	-	-	Seuil CMI à 4 mg/l

Enterococcus spp

Milieu : Gélose de Mueller-Hinton.

Inoculum : 0,5 McFarland

Incubation: atmosphère normale, 35±1°C, 18±2h

Lecture : Mesurer les diamètres d'inhibition sur un fond noir éclairé par une lumière réfléchie, excepté pour les glycopeptides.

Contrôle de qualité : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Tableau des concentrations critiques pour l'interprétation des zones d'inhibition

Liste Minimale			
Antibiotique	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) S ≥ - R <	Notes
Ampicilline	2	10 - 8	<p>En cas de résistance à l'ampicilline, rendre résistant aux uréidopénicillines et aux carbapénèmes. La résistance est due à des modifications de la PLP5 qui présente une affinité diminuée pour les β-lactamines. De très rares souches productrices de pénicillinases ont été décrites.</p> <p>Les souches d'<i>Enterococcus faecium</i> résistantes aux pénicillines doivent être considérées comme résistantes aux autres β-lactamines, y compris les carbapénèmes.</p> <p>Toutes les espèces d'<i>Enterococcus</i> sont naturellement résistantes aux céphalosporines.</p>

<p>Gentamicine (détection de la résistance à haut niveau)</p>	<p>30</p>	<p>8</p>	<p>Les entérocoques présentent une résistance de bas niveau aux aminosides.</p> <p>Cependant, l'association avec des inhibiteurs de la paroi bactérienne (pénicillines, glycopeptides) est synergique et bactéricide vis-à-vis des souches sensibles à ces antibiotiques et ne présentant pas une résistance de haut niveau aux aminosides.</p>
			<p>L'espèce <i>faecium</i> produit une enzyme chromosomique, AAC(6'), qui abolit la synergie entre pénicillines/glycopeptides et aminosides (sauf gentamicine et streptomycine).</p> <p>Test négatif : Les souches avec une zone d'inhibition ≥ 8 mm sont considérées sauvages avec une résistance naturelle de bas niveau.</p> <p>Test positif : Les souches avec une zone d'inhibition < 8 mm sont considérées hautement résistantes à la gentamicine et aux autres aminosides, excepté la streptomycine qui doit être testée séparément si nécessaire. Il n'y a pas de synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides.</p>

Vancomycine	5	12	Les souches d'entérocoques sensibles à la vancomycine présentent des zones d'inhibition à contours nets. L'examen des contours doit être effectué sous lumière directe et une résistance est suspectée devant un contour flou ou la présence de colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition. La lecture ne doit pas être effectuée avant 24 heures d'incubation.
Teicoplanine	30	16	Le phénotype «résistant» à la teicoplanine et «sensible» à la vancomycine est exceptionnel.
Erythromycine	15	23 - 14	
Ciprofloxacine	5	-	Un disque de norfloxacine peut être utilisé pour le dépistage de la résistance aux fluoroquinolones.
Norfloxacine	10	12	Les souches catégorisées sensibles à la norfloxacine peuvent être rendues sensibles à la ciprofloxacine et à la lévofloxacine. Pour les souches non sensibles à la norfloxacine, chaque fluoroquinolone doit être testée individuellement.

Streptococcus pneumoniae

Milieu : Mueller-Hinton additionné de 20mg/L de B-NAD + 5% de sang de cheval défibriné (MHF)

Milieu : (CA-SFM2013) Mueller-Hinton additionné 5% de sang de mouton (MHS)

Inoculum : 0,5 McFarland

Incubation : 5% CO₂, 35±2°C, 20±4H

Tableau des concentrations critiques pour l'interprétation des zones d'inhibition

Liste Minimale			
Antibiotique	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) S ≥ - R <	Notes
Oxacilline (Test de dépistage) sur MHF	1	20	<p>≥ 20 mm : Rendre «sensible», quelle que soit l'indication clinique, excepté pour le céfaclor qui, s'il est rendu, doit être catégorisé «intermédiaire».</p> <p>< 20 mm :</p> <p>Pénicilline G (méningites) et pénicilline V (toutes indications) : Rendre «résistant».</p> <p>Pénicilline G (en dehors des méningites) : Déterminer la CMI et interpréter en fonction des concentrations critiques.</p> <p>Ampicilline et amoxicilline, céfépime, céfotaxime et ceftriaxone et ceftaroline : Déterminer la CMI de l'antibiotique et interpréter en fonction des concentrations critiques.</p>
Oxacilline (Test de dépistage) Sur MHS (CASFM 2013)	5	26	<p>Ce test ne peut pas apprécier le niveau</p> <p>≥ 26 mm : souche sensible a la Pénicilline G et autres Bêta-lactamines.</p> <p>< 26 mm : souche de sensibilité diminuée de résistance à la pénicilline G ou aux autres bêta-lactamines.</p> <p>L'utilisation d'autres disques de bêta-lactamines ne permet pas de</p>

			déterminer le niveau de résistance à ces bêta-lactamines. En conséquence, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-5 < 26 mm), il y a lieu de déterminer la CMI d'au moins une des bêta-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone).
Levofloxacin	5	17	Les souches catégorisées «sensibles» à la norfloxacine peuvent être rendues «sensibles» à la lévofloxacine et à la moxifloxacine et «intermédiaires» à la ciprofloxacine et à l'ofloxacine. En cas de résistance à la norfloxacine, la sensibilité aux fluoroquinolones antipneumococciques doit être déterminée. Si le diamètre autour du disque de norfloxacine (chargé à 10 µg) est inférieur à 12 mm, il existe un risque élevé de sélection in vivo de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique.
Erythromycine	15	22 – 19 26 – 24 (CASFM 2013)	L'érythromycine peut être utilisée pour déterminer la sensibilité à l'azithromycine, la clarithromycine et la roxithromycine.

Tétracycline	30	25 – 22 23 – 21 (CASFM 2013)	<p>Les souches sensibles à la tétracycline sont aussi sensibles à la doxycycline et à la minocycline.</p> <p>Les souches résistantes à la tétracycline sont parfois sensibles à la minocycline et/ou à la doxycycline. Si nécessaire, la sensibilité à la doxycycline des souches résistantes à la tétracycline pourra être évaluée en déterminant la CMI.</p>
Pristinamycine	15	19	
Genta 500	500	17-11	<p>Diamètre d'inhibition ≥ 17 mm: la souche est sauvage (Bas niveau de résistance) et la synergie est possible avec les pénicillines (ou les glycopeptides) en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques.</p> <p>Diamètre d'inhibition < 11 mm : la souche a acquis un Haut niveau de résistance à la gentamicine, ainsi qu'à la kanamycine, tobramycine, amikacine, et nétilmicine. La synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides est abolie</p>
Vancomycine	5	16	
Chloramphénicol	30	21 23 (CASFM 2013)	