



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

Guide de lecture

Méthode EUCAST de diffusion en gélose pour déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Version 4
Juin 2014

Modifications du diaporama guide de lecture

Version	Modifications
<p>Version 4.0 Juin 2014</p> <p>Version 3.0 Avril 2013</p> <p>Version 2.0 Mai 2012</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Information sur les bordures floues des zones d'inhibition pour les streptocoques • Nouvelles photos pour <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> et cotrimoxazole, <i>S. aureus</i> et pénicilline G, entérocoque et vancomycin diapos 17,20 et 21 • Instructions spécifiques pour la détection de la résistance inductible à la clindamycine chez les staphylocoques et streptocoques diapos 22 et 23 <ul style="list-style-type: none"> • Clarification sur les zones floues • Staphylocoques changé en <i>S. aureus</i> diapos 15 à 22 • Information ajouté pour <i>S. maltophilia</i> et cotrimoxazole diapo 17 • Exemple supplémentaire pour vancomycine et entérocoque, diapo 20 <ul style="list-style-type: none"> • Clarification concernant la lecture, diapos 3, 9, 10 et 22 • Ajout d'exemples avec présence de colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition, diapo 6 • Ajout d'exemples de zones d'inhibition à bordure floue pour les staphylocoques diapo10 • Exemple d'une hémolyse β diapo13 • Instructions particulières pour <i>S. maltophilia</i>, diapo17 • Instructions particulières pour <i>E. coli</i> et le mécillinam, diapo 19 • Exemple pour entérocoque et la vancomycine, diapo 20 • Instructions particulières pour le staphylocoque et la pénicilline G, diapo 21
<p>Version 1.1 Décembre 2010</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Clarification à propos des Entérobactéries et ampicilline diapos 3 et 17
<p>Version 1.0 Avril 2010</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Première publication du diaporama guide de l' EUCAST sur la toile

Lecture des zones d'inhibition

- Les instructions qui suivent pour la lecture des diamètres des zones d'inhibition font partie intégrante de la méthode de diffusion en gélose de l'EUCAST
- Les limites des zones d'inhibition doivent être observées à l'œil nu et à complète inhibition de la culture, la boîte étant placée à environ 30 cm de l'œil (sauf exceptions et instructions particulières, voir diapos 15-à 23).
- Mesurer les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse ou d'un système de lecture automatisé.

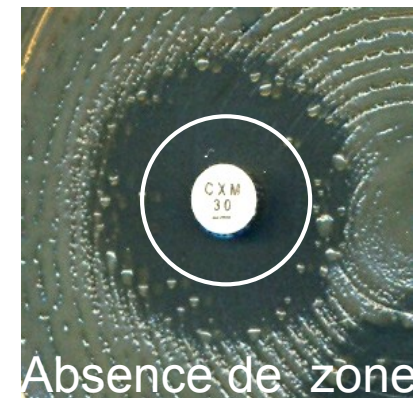
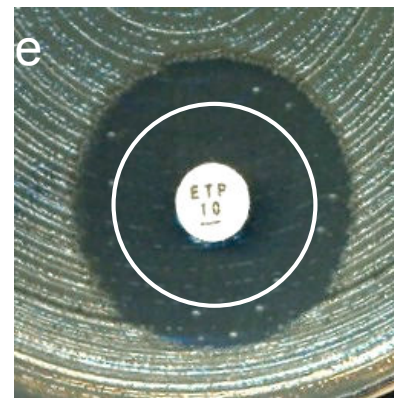
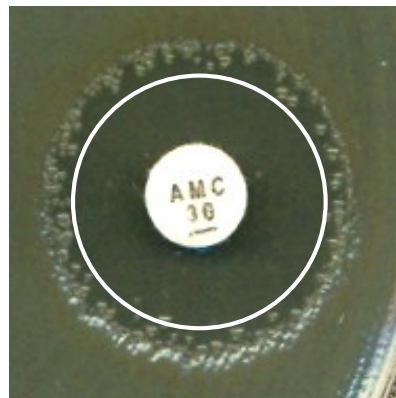
Lecture des zones

- Géloses MH
- Lire les zones au dos des géloses **MH** sur fond noir éclairé avec une lumière réfléchie.
- Géloses MH-F
Lire les zones des géloses **MH-F** directement face à la boîte couvercle retiré, éclairée par une lumière réfléchie.



Colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition

- Si à l'intérieur d'une zone d'inhibition apparaissent des colonies distinctes, les prélever, cultiver séparément vérifier la pureté et si nécessaire refaire le test.
- En l'absence de contamination, ces colonies doivent être prises en compte lors de la lecture.



Colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition, exemples de lecture.

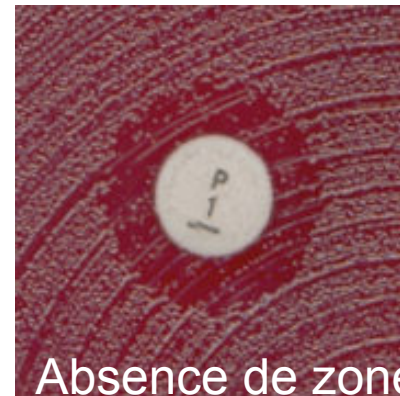
Colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition

- Si des colonies distinctes sont présentes au sein de la zone d'inhibition les repiquer, vérifier la pureté et refaire l'essai si nécessaire.
- En absence de contamination, toutes les colonies doivent être prises en compte.

E. Coli
BLSE +



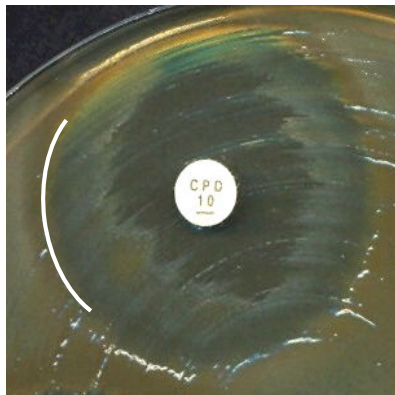
H. influenzae avec
mutations des PLP



Colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition exemples de lecture.

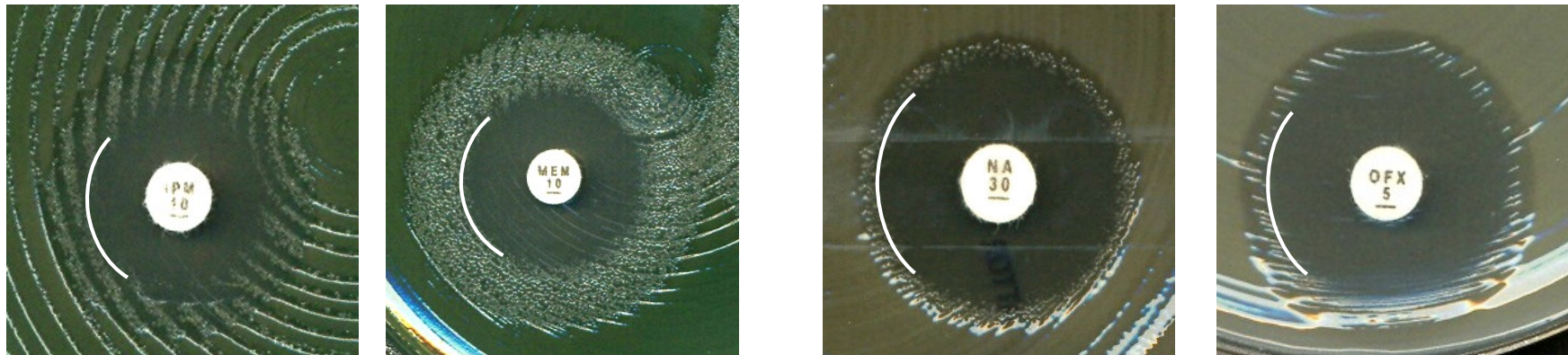
Swarming (étalement)

- Ignorer ce phénomène et lire l'inhibition de la croissance (se rencontre principalement avec *Proteus*).



Doubles zones d'inhibition

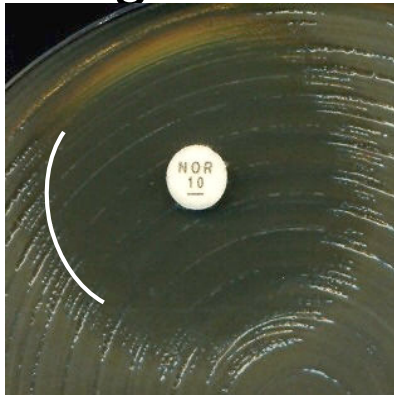
- Vérifier la pureté et refaire l'essai si nécessaire
- En l'absence de contamination, toutes les colonies doivent être prises en compte lors de la lecture



Lecture des doubles zones en l'absence de contamination

Bordures des zones d'inhibition floues: entérobactéries

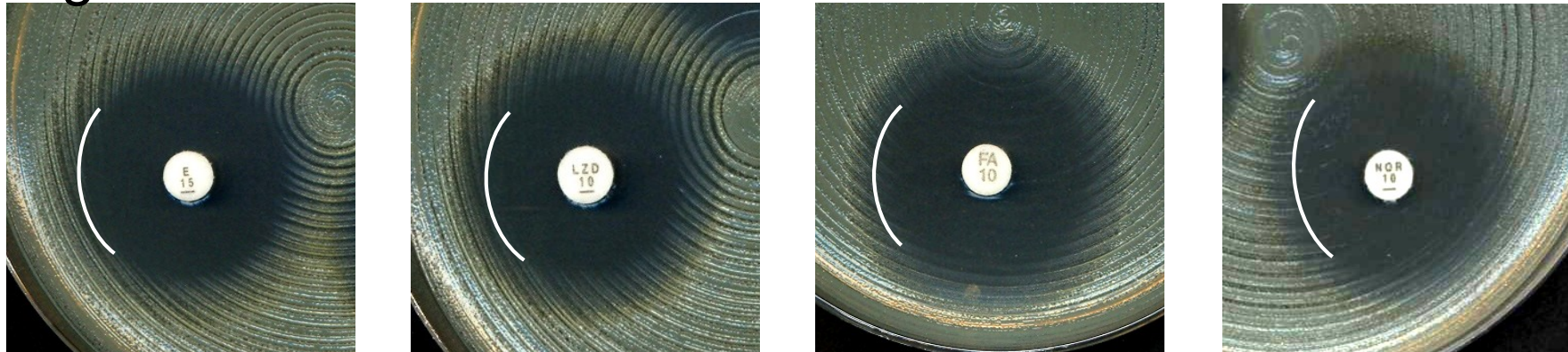
- Placer la boîte de Petri sur un fond noir à 30cm de l'œil et estimer à l'œil nu où se situe la bordure de la zone d'inhibition. Ne pas tenir la boîte face à la lumière (lumière transmise), ne pas utiliser une loupe grossissante.



Bordures des zones d'inhibition floues: entérobactéries.

Bordures des zones d'inhibition floues: staphylocoques

- Placer la boîte de Petri sur un fond noir à 30 cm de l'œil et estimer à l'œil nu où se situe la bordure de la zone d'inhibition. Ne pas tenir la boîte face à la lumière (lumière transmise), ne pas utiliser une loupe grossissante.



Bordures des zones d'inhibition floues: staphylocoques.

Bordures des zones d'inhibition floues : pneumocoques

- Les petites colonies visibles à l'oeil doivent être prises en compte
- La présence de petites colonies près de la bordure d'inhibition peut être due à un excès d'humidité sur les boîtes, et peut être diminuée en séchant les boîtes avant



Bordures des zones d'inhibition floues: *S. pneumoniae*.

Culture ou hémolyse?

- Mesurer l'inhibition de la culture et pas celle de l'hémolyse.
- Il est parfois difficile de distinguer ces deux phénomènes
 - Les β -hémolysines diffusent dans la gélose et sont généralement indépendantes de la croissance.
 - Les α -hémolysines ne diffusent pas. On observe très souvent une culture dans la zone d'hémolyse.
 - Les zones d'inhibition résultant d'une hémolyse α sont fréquentes avec *S. pneumoniae* et les β -lactamines.

Hémolyse β

- Incliner la gélose pour mieux différencier hémolyse et culture.



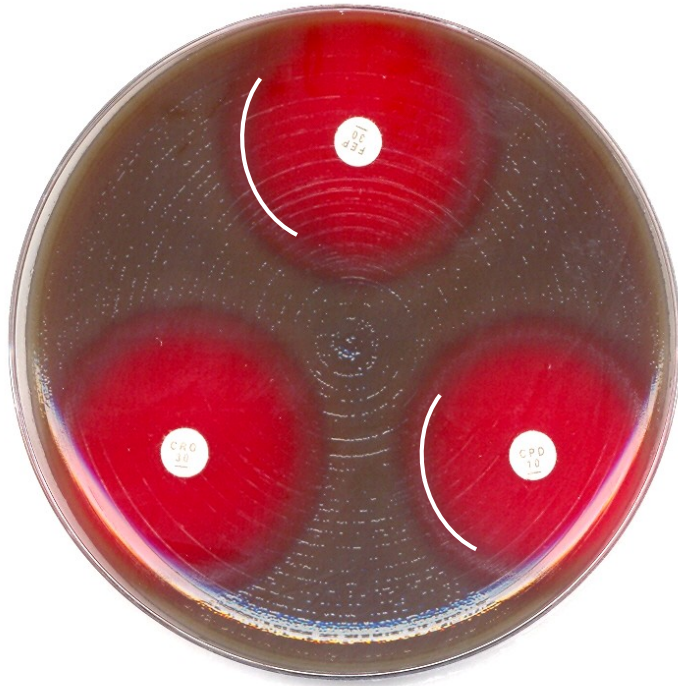
S. pyogenes



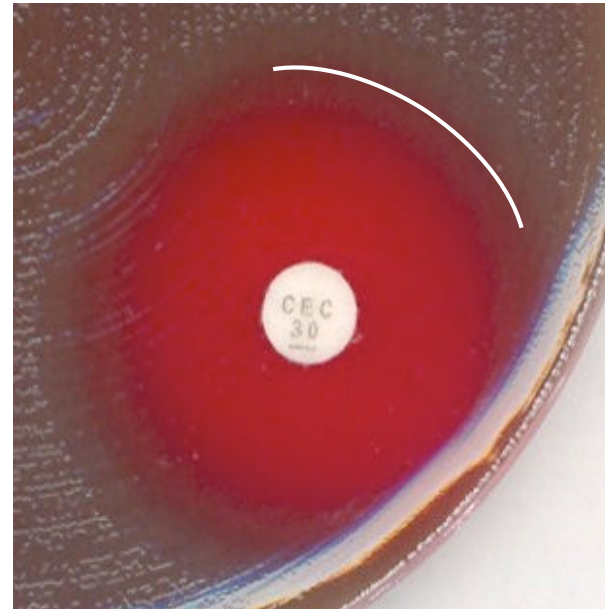
Streptocoque du groupe C

Hémolyse α

- Incliner la boîte de Petri pour mieux différencier hémolyse et culture.



On observe généralement une culture dans toute la zone d'hémolyse α .



Sur gélose MH-F et pour quelques bactéries, on observe une zone supplémentaire d'hémolyse α sans culture. Incliner la boîte de Petri pour mieux différencier hémolyse et culture.

Instructions particulières

- Triméthoprimé et triméthoprimé-sulfaméthoxazole en général
- *Stenotrophomonas maltophilia* et triméthoprimé-sulfaméthoxazole
- Entérobactéries et ampicilline
- *E. coli* et mécillinam
- Entérocoques et vancomycine
- Staphylocoques et pénicilline G.
- Détection de la résistance inductible à la clindamycine chez les staphylocoques et streptocoques

Triméthoprime et triméthoprime-sulfaméthoxazole

- Suivre les instructions pour la lecture et mesurer la zone d'inhibition interne en cas de double zone d'inhibition (voir exemples ci-dessous).
- Ignorer tout voile ou culture fine au contact du disque à l'intérieur de la zone d'inhibition en présence d'une zone claire d'inhibition.



E. coli



Staphylocoque à
coagulase negative



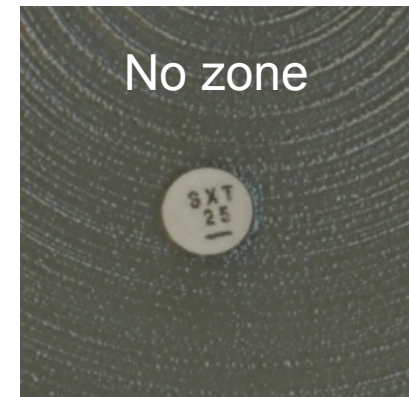
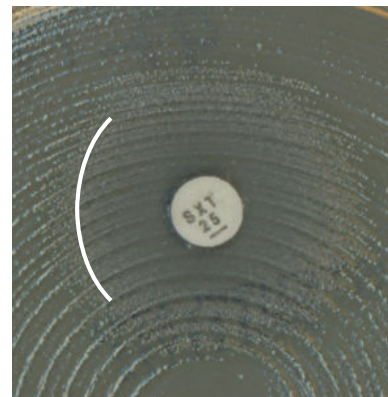
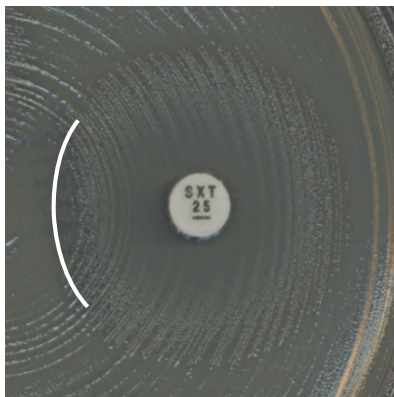
Moraxella



Haemophilus

Stenotrophomonas maltophilia et triméthoprime-sulfaméthoxazole

- Ignorer toute croissance à l'intérieur de la zone d'inhibition, ce qui est courant chez *Stenotrophomonas maltophilia* avec triméthoprime-sulfaméthoxazole. La densité de la culture dans la zone varie entre un voile fin et une culture substantielle.

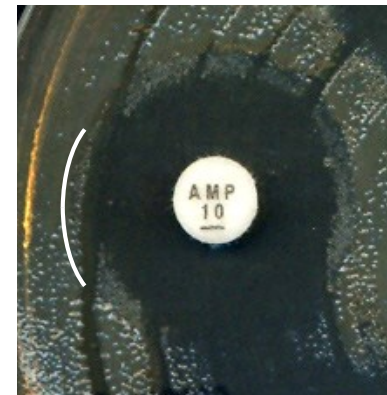
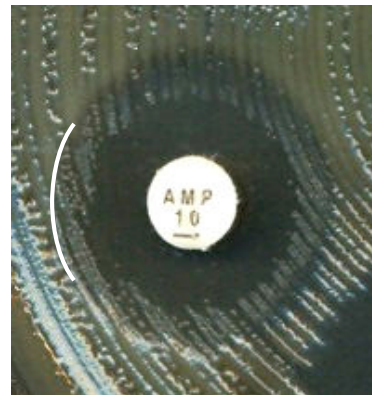


Une zone d'inhibition externe est visible
= souche sensible

Culture jusqu'au contact
du disque
= souche résistante

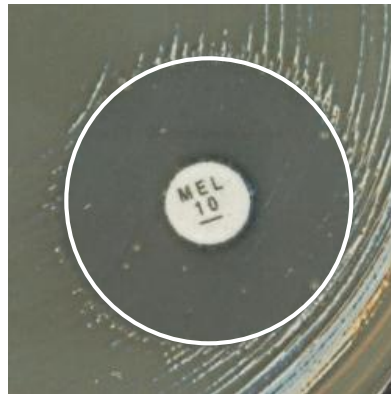
Enterobactéries et ampicilline

- Ignorer une fine culture pouvant apparaître, pour certains lots de Mueller-Hinton, à l'intérieur de la zone d'inhibition. Lorsqu'on lit la zone externe d'inhibition, il n'y a plus de différence selon les lots.



E. coli et mécollinam

- Ignorer les colonies isolées à l'intérieur de la zone d'inhibition.



Entérocoques et vancomycine

- Examiner sous lumière transmise (boîte face à la lumière).
 - Une bordure aux limites peu nettes ou des colonies dans la zone d'inhibition suggèrent une résistance à la vancomycine. Si le diamètre de la zone d'inhibition est \geq à 12 mm et si la bordure n'est pas nette, poursuivre l'investigation.



E. faecalis
sensible



E. Faecium
résistant à la vancomycine
(ERV)

Staphylocoques et pénicilline G

- Examiner en lumière transmise (boîte de Petri face à la lumière)
 - La méthode de diffusion est mieux adaptée que la détermination de la CMI de la pénicilline G pour détecter la production de pénicillinase, à condition que le diamètre soit correctement mesuré et la bordure de la zone d'inhibition bien regardée.



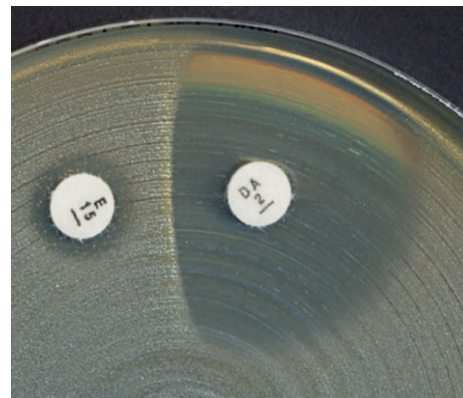
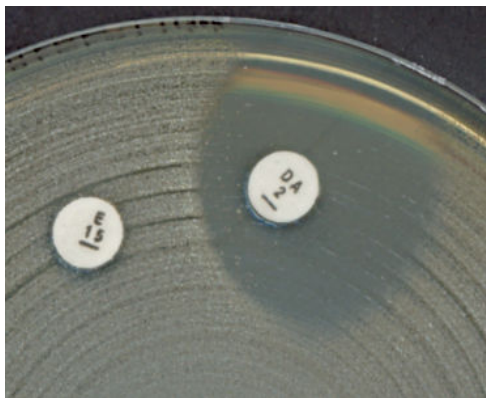
S. aureus avec bordure nette et diamètre de la zone d'inhibition ≥ 26 mm
= Souche résistante



S. aureus avec contours peu nets de la bordure et diamètre de la zone d'inhibition ≥ 26 mm
= Souche sensible

Détection de la résistance inductible à la clindamycine chez les staphylocoques

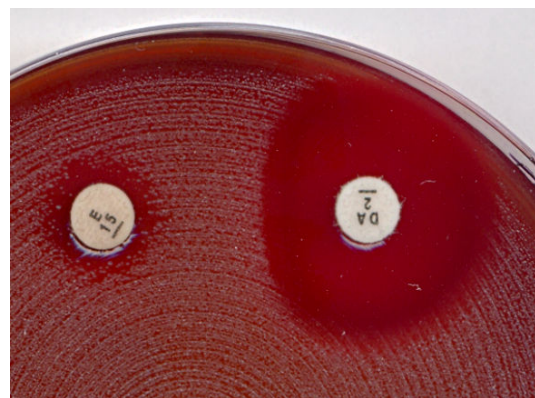
- La résistance inductible à la clindamycine peut être détectée par l'antagonisme observé entre les activités de la clindamycine et d'un macrolide.
- Placer les disques d'érythromycine et de clindamycine **12-20 mm de distance** (bord à bord) et observer l'antagonisme.



Exemples d'antagonisme pour les staphylocoques.

Détection de la résistance inductible à la clindamycine chez les streptocoques

- La résistance inductible à la clindamycine peut être détectée par l'antagonisme observé entre les activités de la clindamycine et d'un macrolide.
- Placer les disques d'érythromycine et de clindamycine **12-20 mm de distance** (bord à bord) et observer l'antagonisme.



Exemples of D phenomenon for streptococci.

Guide de lecture

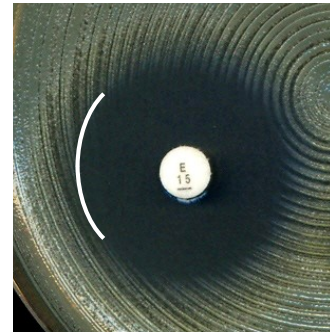
Les bordures des zones d'inhibition doivent être lues à inhibition complète de la culture et à l'œil nu avec une boîte de Petri tenue à une distance de 30 cm.



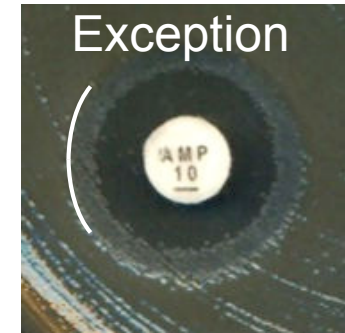
E. coli
ciprofloxacine



S. aureus
linézolide



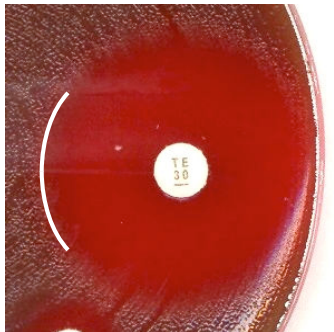
S. Aureus
érythromycine



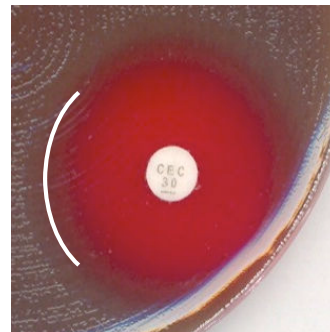
Entérobactéries
ampicilline



S. Pneumoniae
chloramphénicol



S. pneumoniae
tétracycline



S. Pneumoniae
céfaclor

Attention présence
de culture dans les
zones d'inhibition si
hémolyse α !