

Microbiologie: Guide pour l'interprétation des concentrations minimales inhibitrices

Historiquement les tests de sensibilité *in-vitro* ont été faits en routine avec la méthode de diffusion en Agar (Kirby-Bauer). La taille de la zone sans croissance déterminait, si la bactérie était classée comme sensible, résistante ou intermédiaire à un certain antibiotique.

Il s'agit d'une aide d'orientation sur le choix d'un antibiotique efficace, mais la méthode Kirby-Bauer ne livre aucune information au vétérinaire sur la concentration exacte d'antibiotique nécessaire pour atteindre un résultat thérapeutique. La méthode quantitative automatisée utilisée dans nos laboratoires de microbiologie avec la plateforme VITEK apporte un test de sensibilité aux antibiotiques rapide et précis (AST; Antibiotic Susceptibility Test), y.c. l'identification de la concentration minimale inhibitrice. Avec la CMI, on peut déterminer exactement la concentration nécessaire d'un antibiotique pour inhiber la croissance d'un agent pathogène.

Ce guide donne une explication détaillée des concepts suivants qui jouent un rôle important pour la détermination de CMI:

- La CMI est la concentration ($\mu\text{g/ml}$) la plus basse d'un antibiotique pour inhiber la croissance d'une souche de bactérie donnée (voir paragraphe «Qu'est-ce que la CMI ?»)
- La CMI d'un antibiotique ne peut pas être comparée avec la CMI d'un autre antibiotique (voir paragraphe «Comment sont utilisés les CMI ?»)
- Le choix de l'antibiotique ne devrait pas se baser sur la CMI seule, mais aussi sur plusieurs critères (voir paragraphe «Choix de l'antibiotique»).
- Les tables aident à l'interprétation de la CMI et au choix de l'antibiotique

Qu'est-ce que la CMI?

La CMI, ou la concentration minimale inhibitrice, est la concentration ($\mu\text{g/ml}$) la plus basse d'un antibiotique pour inhiber la croissance d'une souche bactérienne donnée. Il s'agit d'une valeur qui dépend de la souche et qui varie considérablement d'une espèce bactérienne à l'autre et même au sein d'une espèce, en fonction de la souche individuelle isolée dans chaque cas clinique, pour le même antibiotique.

Chez IDIEXX un système automatisé commercial est utilisé pour la détermination de la CMI. Il s'agit d'une méthode quantitative de test de sensibilité. À l'aide d'une valeur de CMI, la classe d'antibiotique la plus efficace peut être identifiée. Cette information peut aider à choisir l'antibiotique adéquat pour augmenter les chances de succès thérapeutique et pour permettre un ralentissement de l'évolution des résistances aux antibiotiques.

La CMI est indiquée sous forme de chiffre. Les valeurs au-dessus ou au-dessous d'une zone de mesures sont indiquées par "<=" (si en dessous de la zone, sensible dans la catégorie) ou par ">=" (si au-dessus de la zone, dans la catégorie résistante).

Comment est indiquée la CMI

À côté de chaque antibiotique, il y a l'interprétation de la sensibilité: S (sensible), I (intermédiaire), ou R (résistant) sont les trois catégories d'interprétation listées dans la première colonne de résultat de l'antibiogramme.

La valeur de CMI en $\mu\text{g/ml}$ suit chaque catégorie de sensibilité dans la deuxième colonne de résultats de l'antibiogramme. «Sensible» signifie que l'agent pathogène est inhibé par les concentrations

sériques atteintes par la substance active avec les doses usuelles d'antibiotique.

«Intermédiaire» signifie que l'agent pathogène est seulement inhibé par des concentrations sériques atteintes plus hautes que celles atteintes avec les doses usuelles. Et «résistant» signifie que l'agent pathogène est résistant aux concentrations sériques atteintes normalement par le médicament.

Ici, il s'agit du standard internationalement reconnu du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Les catégories d'interprétation sont évaluées selon les valeurs appelées Breakpoints (valeurs limites) pour chaque antibiotique. Les Breakpoints sont listés dans les versions actuelles des documents du CLSI correspondants.

Quand est-ce que les CMIs ne peuvent pas être déterminées?

Une détermination de CMIs n'est pas réalisée quand:

- les conditions de croissance d'un agent pathogène peuvent nécessiter un test de sensibilité avec une autre méthode.
- les critères d'interprétation du CLSI ne sont pas disponibles
- certains antibiotiques ne sont pas disponibles pour notre système automatisé.
- l'antibiotique n'est cliniquement pas efficace, indépendamment des résultats *in vitro*.
- l'antibiotique n'est pas efficace contre un agent pathogène à cause de son mécanisme d'action, p.ex. la clindamycine n'est efficace que contre les germes Gram-positives et n'est donc pas testée contre les germes Gram-négatives (p.ex. *Pseudomonas* spp.)
- l'antibiotique n'a pas été testé à cause du panel antibiotiques du système automatisé et que le résultat a été dérivé des directives internationales.

Comment sont utilisés les CMIs?

Le breakpoint (valeur limite) d'un antibiotique est la dilution à partir de laquelle les bactéries commencent à montrer une résistance.

Breakpoints et zones de dilutions se différencient selon l'antibiotique et l'espèce de bactérie. Les tables avec les breakpoints respectifs sont l'objet constant de nouvelles évaluations par le CLSI conformément aux données scientifiques les plus récentes (données pharmacologiques et cliniques). Les versions actuelles sont disponibles en ligne (voir <https://clsi.org/>).

Exemple d'antibiogramme

Analyse bactériologique, culture aérobie:

- Groupe *Staphylococcus intermedius*, germes en nombre modéré (1)
- *Escherichia coli*, germe en grand nombre (2)

Antibiogramme pour souche Nr.	(1)		(2)		Commentaire
	SIR	CMI	SIR	CMI	
Penicillin	R	$\geq 0,5$			
Ampicillin	R		S	≤ 2	Valable aussi pour Amoxicillin
Amoxicillin	R		S		Valable aussi pour Ampicillin
Amoxicillin/Clavulansäure	S	≤ 2	S	≤ 2	
Cefalexin	S		S	≤ 4	
Cefovecin	S	$\leq 0,5$	S	$\leq 0,5$	
Gentamicin	S	$\leq 0,5$	S	≤ 1	
Erythromycin	S	0,5			
Tetracyclin	S	≤ 1	S	≤ 1	Substance principale pour toutes les Tetracyclines
Doxycyclin	S	$\leq 0,5$	S	1	
Enrofloxacin	S	$\leq 0,5$	S	0,5	Substance principale pour toutes les Fluorchinolones
Marbofloxacin	S	$\leq 0,5$	S	$\leq 0,5$	
Pradofloxacin	S	$\leq 0,12$	S	0,25	
Clindamycin	S	0,25			
Sulfamethox./Trim.	S	≤ 10	S	≤ 20	Valable aussi pour toutes les combinaisons de Sulfonamid/Trim.
Chloramphenicol	S	8	S	8	Substance principale pour toutes les phénicolés (p.ex. Florphénicol)

Explications pour l'antibiogramme:

S = sensible; Substance contre les agents pathogènes active aux doses usuelles conseillées. I = intermédiaire; Substance active contre les microorganismes à des doses plus hautes que celles conseillées. R=résistant; Substance non active contre les microorganismes à cause d'un mécanisme de résistance, ni à la dose conseillée ni à une dose plus élevée.

Méthode: Détermination automatisée de la résistance (CMI) d'après les directives du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Valeurs CMI (si disponibles) indiquées en $\mu\text{g/ml}$.

Les résultats SIR et/ou les valeurs CMI ne sont pas indiqués lorsqu'aucun critère d'interprétation (appelé breakpoints) n'est disponible selon le CLSI, lorsque les conditions de croissance du microorganisme ne permettent pas de déterminer les valeurs de mesure avec la méthode utilisée ou lorsque la détermination n'a pas été possible pour l'isolat individuel.

Les résultats sont en partie obtenus par dérivation selon les directives internationales (information disponible sur demande au laboratoire). L'antibiogramme est établi en fonction des germes. L'absence de résultat SIR dans l'antibiogramme indique en général une combinaison germe-principe actif non pertinente. Veuillez également tenir compte des remarques concernant les substances phares et les résistances croisées.

Attention, considérer les limitations d'utilisation et les contreindications! Le choix de l'antibiotique est de la responsabilité du vétérinaire traitant. La méthode test se rapporte au taux d'efficacité systémique. L'essai de substances applicables localement comme l'acide fusidique et la polymyxin B n'est pas possible.

La comparaison des CMIs de différents antibiotiques ne se base pas seulement sur de simples valeurs, mais prend aussi en compte à quelle distance la CMI est éloignée du breakpoint, tout comme de l'endroit de l'infection et d'autres aspects, comme l'âge, l'espèce et l'état de santé de l'animal.

D'autres facteurs importants sont les possibles effets secondaires de l'antibiotique, tout comme la fréquence d'application et de la voie d'application

Exemple: Une souche de *Staphylococcus (S.) pseudintermedius* a une CMI de $0,5 \mu\text{g/ml}$ pour l'Erythromycin et $0,25 \mu\text{g/ml}$ pour la Pradofloxacin. Si on considère les dilutions d'Erythromycine à $0,5 \mu\text{g/ml}$, alors cette souche de *S. pseudintermedius* est éloignée de quatre dilutions du breakpoint. Par contre, pour la pradofloxacin, la même souche de *S. pseudintermedius* est à une CMI de $0,25 \mu\text{g/ml}$ et donc à seulement trois dilutions du breakpoint. Sur la base des valeurs CMI, cette souche de *S. pseudintermedius* est plus sensible à l'érythromycine qu'à la pradofloxacin. D'autres facteurs à considérer seront traités dans le chapitre „Choix de l'antibiotique“.

Notre conseil médical reste à volontiers à votre disposition pour vous aider à interpréter les résultats des tests.

La valeur CMI est tout d'abord un paramètre requis pour l'analyse exacte du test de laboratoire. Celui-ci est nécessaire pour l'interprétation de l'efficacité *in vitro* de l'antibiotique contre l'isolat. Comme montré ci-dessus dans l'exemple, les valeurs CMI de différentes substances ne peuvent être directement comparées entre elles pour l'utilisation clinique. Un antibiotique avec une valeur CMI de $0,25 \mu\text{g/ml}$ peut être moins efficace que celui avec une valeur CMI de $0,5 \mu\text{g/ml}$. Ceci peut paraître illogique, car il semblerait qu'une double concentration pour la dernière substance est nécessaire pour inhiber la croissance de l'isolat *in vitro*. Chez le patient, donc *in vivo*, les paramètres pharmacocinétiques et cliniques sont importants. Ces facteurs ont été pris en compte lors de l'établissement des breakpoints cliniques par le CLSI et ont mené à cette classification clinique d'un isolat comme sensible, intermédiaire ou résistant à une substance active. Donc, un isolat avec une CMI identique ou avec une CMI même plus

élevée à une substance active peut être classé sensible, alors que le même isolat pour une autre substance active avec une CMI identique ou même plus basse peut être considéré comme résistant. Ici, il est à nouveau démontré que la valeur CMI resp. sa hauteur seule ne permettent pas une affirmation clinique, et qu'en outre, elles doivent être interprétées individuellement selon la substance active et l'agent pathogène. La valeur de la CMI ne permet pas de déduire directement la dose thérapeutique nécessaire. C'est seulement avec les connaissances exactes des paramètres pharmacologiques comme la distribution tissulaire, les concentrations atteintes dans les tissus cibles, les taux d'élimination, les limites de toxicité etc. que la valeur CMI peut être utilisée pour des applications thérapeutiques. Pour l'utilisation clinique directe, l'interprétation thérapeutique (S, I ou R) est la base pour un succès thérapeutique.

Efficacité *In vitro* de la pradofloxacin et de l'érythromycine contre une souche *Staphylococcus pseudintermedius*:

Pradofloxacin, *Staph. pseudintermedius*

Breakpoint pour R

CMI (µg/ml)	0.12	0.25	0.5	1	2	4
Interprétation	S	S	I	I	R	R

CMI = 0.25 µg/ml
3 dilutions éloignées du breakpoint

Antibiotiques comme substances principales
Certains antibiotiques sont utilisés pour déterminer la sensibilité d'autres antibiotique de la même classe. C'est pour cette raison que p.ex. la présence de staphylocoques résistants à la méthiciline (MRS) n'est pas testée en laboratoire avec de la méthiciline, mais avec de l'oxacilline et/ou de la céfoxitine. L'appellation MRS est utilisée par consensus, car celle-ci est usuelle depuis des années dans les articles scientifiques et les manuels.

Erythromycin, *Staph. pseudintermedius*

Breakpoint pour R

CMI (µg/ml)	0.25	0.5	1	2	4	8
Interprétation	S	S	I	I	I	R

CMI = 0.5 µg/ml
4 dilutions éloignées du breakpoint

Exemple: l'érythromycine est éloignée de quatre dilutions de son breakpoint, alors que la pradofloxacin est éloignée de seulement trois dilutions de son breakpoint. Dans ce cas alors, la souche *S. pseudintermedius* est plus sensible à l'érythromycine bien que la valeur absolue mesurée CMI (0,25 µg/ml) pour la pradofloxacin est plus basse que pour la CMI déterminée pour l'érythromycine (0,5 µg/ml).

Guide rapide pour l'interprétation de la CMI
Une approche simplifiée pour une utilisation pratique de la CMI:

Quand le résultat est ...	CMI	...alors l'antibiotique est:	Autres mesures / remarques:
Sensible	≤ (chaque valeur)	efficace à la concentration testée la plus basse	L'antibiotique devrait être efficace
Sensible	(chaque valeur)	efficace, mais pas à la concentration testée la plus basse	Considérer la zone de CMI pour déterminer dans quelle région se situe la souche et comparer celle-ci avec les données d'autres antibiotiques
Intermédiaire	(chaque valeur)	possiblement efficace à hautes doses ou quand il se concentre à l'endroit de l'infection	Considérer la zone de référence pour les concentrations d'antibiotiques atteignables dans les tissus cibles
Résistant	(chaque valeur)	possiblement pas état d'atteindre une concentration sérique efficace	Choisir un antibiotique contre lequel le pathogène est testé sensible
Résistant	≥ (chaque valeur)	probablement pas efficace	Choisir un antibiotique contre lequel le pathogène est testé sensible

Antibiotique	Déduction de la sensibilité pour:
Cephalexin	Toutes les céphalosporines de 1 ^e génération sauf Cefazolin
Clindamycin	Lincosamide (Lincomycin, Pirlimycin) (seulement GP)
Erythromycin	Azithromycin et Clarithromycin (seulement GP), Macrolide (14), (partiellement) Tylosin (16), Spiramycin
Oxacillin	Methicillin (MRS) et Isoxazolympenicilline (Cloxa-, Diclloxacillin)
Sulfamethoxazol/Trimethoprim	Autres sulfonamides potentialisés
Tetracyclin	Doxycyclin, Oxytetracyclin
Ampicillin	Aminopenicilline (p.ex.. Amoxicillin); Penicillin (GP)
Kanamycin	Neomycin, Framycetin, Paromomycin
Chloramphenicol	Phénicols (Florfenicol)

(GP = Agent gram-positif)

Choix de l'antibiotique

Lors du choix d'un antibiotique, outre la CMI, d'autres facteurs importants doivent être considérés. La localisation de l'infection est importante, car les médicaments liposolubles atteignent des concentrations plus hautes dans les tissus que dans le sérum. Les substances éliminées par les reins atteignent des concentrations beaucoup plus hautes dans la vessie que dans le sérum.

De plus, certains antibiotiques sont plus efficaces contre les bactéries Gram-négatives que contre les Gram-positives et vice versa. Il faut en outre tenir compte que certains antibiotiques sont toxiques chez certaines espèces.

C'est pour cette raison que le choix d'un antibiotique ne doit pas se baser uniquement sur la CMI, mais aussi sur d'autres critères. L'Antibioticscout est une aide précieuse: <https://www.vetpharm.uzh.ch/php/absout.php> et le guide thérapeutique pour les vétérinaires.

Le choix de l'antibiotique optimal doit tenir compte des critères pertinents dans chaque cas clinique.

Et enfin: Pourquoi une détermination de sensibilité n'est pas possible dans certains cas?

Chez IDEXX, nous nous tenons aux directives internationalement reconnues du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), combiné à notre longue expérience dans la réalisation de tests de sensibilité aux antibiotiques.

- Les tests de sensibilité ne sont pas réalisés sur la flore physiologique et les microorganismes apathogènes.
- Quand la détermination de sensibilité n'est pas possible (p.ex. méthode non utilisable, échec de croissance générale ou individuelle, standards internationaux non disponibles)
- Les substances topiques ne sont pas testées ((Les points d'arrêt ne sont établis que pour l'application systémique.).
- Les combinaisons germe/principe actif non pertinentes ne sont pas testées, comme par exemple la clindamycine contre les germes Gram-négatif ou la pénicilline contre E. coli (dans les deux exemples, il existe des mécanismes de résistance intrinsèque contre ces antibiotiques).

Avez-vous des questions?

Si vous avez des questions, notre conseil médical ou notre hotline de laboratoire vous aide volontiers.

Vous pouvez nous joindre par téléphone aux numéros ci-dessous.

Les informations contenues dans ce document ne sont données qu'à titre indicatif. Comme pour tout diagnostic et traitement, chaque patient doit être évalué individuellement sur la base d'une anamnèse, d'un examen clinique et d'un examen de laboratoire complet. Pour tous les traitements médicamenteux ou les programmes de surveillance, il convient de respecter les indications du fabricant concernant les dosages, les domaines d'application, les interactions et les précautions.

IDEXX Diavet AG

Schlyffstrasse 10
CH – 8806 Bäch
Telefon: 044 786 90 20
info-switzerland@idexx.com
www.idexx.ch

