

Programme québécois d'antibiosurveillance vétérinaire

Volet surveillance de la résistance aux antibiotiques

Notes méthodologiques

Au Laboratoire de santé animale (LSA) du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et au Centre de diagnostic vétérinaire de l'Université de Montréal (CDVUM), un antibiogramme est réalisé lorsqu'une culture bactérienne se révèle positive et qu'un médecin vétérinaire microbiologiste juge pertinent de le faire. La technique de diffusion en gélose est utilisée quotidiennement pour les cas issus des activités diagnostiques. La technique de microdilution en bouillon est quant à elle employée ponctuellement pendant l'année pour la surveillance de bactéries ciblées.

Technique de diffusion en gélose

La technique de diffusion en gélose de Kirby-Bauer, normalisée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), est la technique utilisée de routine au LSA et au CDVUM pour réaliser un antibiogramme. Elle consiste à placer des disques d'antibiotiques sur des géloses ensemencées et à mesurer les zones d'inhibition produites par les disques après incubation. La lecture des zones d'inhibition est effectuée par l'appareil Biomic V3 depuis 2018. Cette technologie permet une plus grande précision et une standardisation de l'interprétation des données comparativement à la lecture manuelle. Les résultats et les images à haute résolution générés par l'appareil sont sauvegardés automatiquement et peuvent être consultés en tout temps. Le diamètre de la zone d'inhibition, en millimètres, est utilisé pour classer la bactérie selon sa sensibilité (sensible, intermédiaire ou résistante) à l'antibiotique testé. La sensibilité est interprétée en fonction du diamètre d'inhibition mesuré et des valeurs seuils établies.

Cette technique offre une flexibilité quant au choix des antibiotiques à tester. Cependant, elle présente quelques limites. Par exemple, certaines bactéries ne peuvent pas être testées parce que leur vitesse de croissance est trop lente, ou encore parce qu'elles requièrent des conditions atmosphériques précises ou des milieux de culture particuliers. De plus, en ce qui concerne certaines bactéries, aucune valeur de référence n'existe pour interpréter le test de sensibilité. Les bactéries suivantes sont des exemples pour lesquels un antibiogramme par la technique de diffusion en gélose ne peut être effectué : *Listeria monocytogenes*, *Glaesserella parasuis*, *Bacillus* spp., *Brachyspira hyodysenteriae*, *Corynebacterium* spp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Mycoplasma* spp., *Rhodococcus equi*, *Campylobacter* spp. et les bactéries anaérobies.

Technique de microdilution en bouillon

À des fins de surveillance, des isolats provenant de cas de mammite bovine sont analysés au moyen d'un antibiogramme par la technique de microdilution en bouillon. Plus précisément, des isolats d'*Escherichia coli*, de *Klebsiella pneumoniae*, de *Staphylococcus aureus*, de *Streptococcus dysgalactiae* et de *Streptococcus uberis* poussant en culture pure et en grande quantité (plus de 5 000 unités formant colonie [UFC] par millilitre de lait) sont sélectionnés pour analyse.

Cette méthode se base sur le concept de concentration minimale inhibitrice (CMI) d'antimicrobiens, exprimée en microgramme par millilitre, qui permet d'inhiber la croissance bactérienne après 18 à 24 heures d'incubation à 35 °C.

L'appareil Sensititre® et la plaque commerciale CMV1AMAF sont utilisés. Quatre dilutions sont testées par antibiotique (sauf dans le cas de l'ampicilline et de la pénicilline, pour lesquelles sept dilutions sont testées), y compris les dilutions représentant les valeurs seuils qui permettent de classer une bactérie selon sa sensibilité (sensible, intermédiaire ou résistante) à l'antibiotique testé. Dans certains cas, la CMI est plus faible ou plus élevée que la concentration testée sur la plaque. Lorsque cela se produit, le résultat obtenu est moins précis et ne donne pas la valeur exacte. Le résultat de CMI sera alors précédé des symboles < ou >. L'avantage de l'utilisation de ces plaques commerciales est de permettre une comparaison plus facile avec les données de surveillance contenues dans d'autres rapports ou dans la littérature et de pouvoir personnaliser les plaques en y ajoutant des antibiotiques d'intérêt en médecine humaine.

Seuils d'interprétation

L'interprétation des résultats quantitatifs ou semi-quantitatifs obtenus au moyen des techniques de diffusion en gélose et de microdilution en bouillon dépend de la bactérie testée et de l'existence de valeurs de référence. Si des seuils vétérinaires sont établis, l'interprétation est basée sur ces derniers. Sinon, elle est basée sur des seuils humains. Au besoin, des précisions concernant l'interprétation des diamètres d'inhibition de croissance ainsi que les seuils d'interprétation des CMI peuvent être obtenues en [communiquant avec le LSA](#).

Résistance à la méticilline

Une surveillance est également exercée pour détecter la présence des gènes *mecA* ou *mecC* chez les *Staphylococcus* considérés comme résistants à la méticilline sur la base de l'évaluation phénotypique de la résistance. À cette fin, lorsqu'un antibiogramme est réalisé par la technique de diffusion en gélose pour un staphylocoque, un antimicrobien sentinelle est testé : l'oxacilline pour *Staphylococcus schleiferi* et pour les *Staphylococcus* du groupe *intermedius* ainsi que la céfoxitine pour tout autre staphylocoque. Ainsi, les isolats présentant un phénotype de résistance à l'antimicrobien sentinelle sont considérés comme résistants à la méticilline. Par principe de précaution, ces isolats sont identifiés dans les rapports de laboratoire comme étant résistants aux bêta-lactamines. Par la suite, une analyse PCR en temps réel est effectuée afin de confirmer la présence des gènes *mecA* ou *mecC*.

Références

BAUER, A. W., et autres. « Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method », *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 45, n° 4, 1966, p. 493-496. doi : 10.1093/ajcp/45.4_ts.493.

CLSI. *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals*, 5^e éd., CLSI standard VET01, États-Unis, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018, 156 p.

CLSI. *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals*, 6^e éd., CLSI supplement VET01S, États-Unis, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023, 242 p.

CLSI. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*, 11^e éd., CLSI standard M07, États-Unis, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018, 112 p.

CLSI. *Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data*, 5^e éd., CLSI guideline M39, États-Unis, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2022, 192 p.

CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 33^e éd., CLSI supplement M100, États-Unis, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023, 402 p.