

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



FACULTÉ DE MÉDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE



ANNÉE 2016

N°007

Contrôle de Qualité Interne de la Réalisation de
L'Antibiogramme Standard.

MEMOIRE

Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée

PRESENTÉ ET SOUTENU

Le 25 janvier 2016

PAR

Mr Mohameden Ould Mohamed Ahmed

Né le 31/12/1969 à Nouakchott (MAURITANIE)

MEMBRES DU JURY

Président	M. CHEIKH SAAD BOUH BOYE	PROFESSEUR	
Membres	M. GORA	MBAYE	MAITRE DE CONFERENCE AGREGE
	M. BABACAR	MBENGUE	MAITRE ASSISTANT
Directeur de mémoire :	M. ABDOULAYE	SECK	MAITRE ASSISTANT

Sommaire

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

I.	Généralités sur l'Antibiogramme 1 3 4.....	6
I.1.	Qu'est-ce que l'antibiogramme ?.....	6
I.2.	Les souches de références [3].....	6
I.3.	Méthodes de l'antibiogramme [3].....	6
I.4.	L'antibiogramme standard [3].....	6
I.5.	Quelques définitions.....	7
I.5.1.	Milieu de culture.....	7
I.5.2.	Antibiotique 5.....	7
I.5.3.	Bactériostase.....	8
I.5.4.	Spectre d'activité.....	8
I.5.3.	Catégorisation des souches bactériennes.....	8
II.	Généralité sur les notions de Qualité [78].....	8
II.1.	Le système de qualité.....	8
II.2.	La qualité.....	8
II.3.	L'Assurance Qualité.....	8
II.4.	Contrôle de Qualité Externe (CQE).....	8
II.5.	Contrôle de Qualité Interne (CQI).....	9
II.6.	Procédures.....	9

DEUXIEME PARTIE: TRAVAIL PERSONNEL

I.	Contrôle de qualité Interne de l'antibiogramme standardisé.....	12
I.1.	Contrôle du milieu préparé et des antibiotiques utilisés [8, 9].....	13
I.1.1.	Contrôle du milieu préparé 10.....	13
I.1.2.	Contrôle de qualité des disques d'antibiotiques.....	13
I.2.	Contrôle de l'inoculum.....	14
I.3.	Ensemencement et incubation des boîtes.....	14
I.4.	Lecture des diamètres d'inhibition et interprétation 3.....	15
I.5.	Contrôle des souches références 3.....	15
II	Principales sources d'erreurs en antibiogramme standard [9].....	16
II.1	La lecture des diamètres des zones d'inhibition.....	17
II.2.	Le milieu de culture.....	17

II .3. L'inoculum.....	18
II.4. Les disques d'antibiotiques.....	18
II. 5. Conditions de l'incubation.....	18
II .6 Souches de référence et contrôle de qualité	18
CONCLUSION.....	19
REFERENCES	
BIBLIOGRAPHIQUES.....	20

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses occupent une place importante en pathologie humaine en particulier les maladies d'origine bactérienne.

La prise en charge des maladies dues à une ou des bactérie(s) nécessite le plus souvent l'isolement du ou des germes en cause à l'exception des bactéries non cultivables. 1 2

Le traitement de ces pathologies nécessite une antibiothérapie adaptée en fonction de la sensibilité du germe en cause de la maladie 1.

L'étude de la sensibilité de la souche est réalisée de manière classique par la technique d'antibiogramme standard dont le résultat permet de déterminer le phénotype de la bactérie isolée. Les résultats obtenus à partir de l'antibiogramme doivent refléter le profil de sensibilité de la souche testée. 3

Pour valider la technique de l'antibiogramme, un contrôle de qualité interne (CQI) doit être instauré pour bonne fiabilité des résultats obtenus.3

Le CQI occupe une place indispensable en antibiologie 2. En effet, il permet de dépister d'éventuelles erreurs commises sur les antibiogrammes des souches isolées de produits pathologiques des patients.

Différents acteurs interviennent dans le processus de sa réalisation, et chacun d'entre eux comporte un risque intrinsèque.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'utilité du CQI dans la validation de l'antibiogramme.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

I. Généralités sur l'Antibiogramme 1 3 4

L'antibiogramme consiste à la détermination du profil de sensibilité de la ou des bactéries responsables de l'infection à un panel d'antibiotiques.

Il permet de déterminer l'activité bactériostatique des antibiotiques et la prédiction du succès ou de l'échec thérapeutique.

Les objectifs de l'antibiogramme sont d'ordres thérapeutiques et épidémiologiques.

Il permet l'adaptation des recommandations thérapeutiques.

I.1. Qu'est-ce que l'antibiogramme ?

L'antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

I.2. Les souches de références [3]

Les souches de référence bactériennes sont des souches qui possèdent tous les caractères d'un groupe de bactéries et qui sont génétiquement stables. Elles permettent de valider la technique de l'antibiogramme.

I.3. Méthodes de l'antibiogramme [3]

Il existe diverses méthodes pour déterminer la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique donné :

- les techniques en milieu liquide (en tube, en microplaque).
- la technique en milieu solide (E-test).
- l'antibiogramme automatisé.
- l'antibiogramme par diffusion (antibiogramme standard).

I.4. L'antibiogramme standard [3]

C'est la méthode par diffusion en milieu gélose recommandée par l'OMS (méthode de Kirby - Bauer). L'antibiogramme par diffusion en milieu gélose est validé par des contrôles de qualité interne définis dans les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

La méthode de diffusion à partir des disques imprégnés d'antibiotiques est l'une des plus vieilles approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine. Elle convient pour la majorité des bactéries pathogènes incluant les bactéries à croissance lente et permet :

- une réalisation de l'antibiogramme
- le choix adéquat d'antibiotiques ;
- de minimiser les variations d'antibiogramme ;
- d'éviter les erreurs de lectures (fausses résistances et fausses sensibilités) ;
- l'interprétation de l'efficacité ou non de l'antibiotique ;
- de fournir des résultats qualitatifs interprétables en classant les souches à tester en trois catégories: sensibles (S), intermédiaires (I), Résistantes (R) sur la base des diamètres critiques et ne requiert aucun matériel particulier, comme la plupart des techniques de diffusion en gélose.

I.5. Quelques définitions

Plusieurs notions sont liées à la réalisation de l'antibiogramme.

I.5.1. Milieu de culture

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des micro-organismes peuvent se multiplier. Il doit donc satisfaire les exigences nutritives du micro-organisme étudié ce qui implique :

- de couvrir les besoins en ions minéraux, en facteurs de croissance, apporter la source de carbone et d'énergie
- un pH voisin de celui optimal
- une force ionique optimale (le milieu peut être isotonique).

I.5.2. Antibiotique 5

On appelle «antibiotique» toute substance naturelle d'origine biologique élaborée par un organisme vivant, ou toute substance chimique produite par synthèse, ou substance semi synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle ayant les propriétés suivantes :

- une activité antibactérienne.
- une activité en milieu organique.
- Une bonne absorption et une bonne diffusion dans l'organisme.

Les antibiotiques ont la propriété d'interférer directement avec la prolifération des micro-organismes à des concentrations tolérées par l'hôte.

I.5.3. Bactériostase

La Bactériostase correspond à un ralentissement de la croissance d'une population bactérienne, pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance.

I.5.4. Spectre d'activité

Le spectre d'activité correspond à la liste des espèces bactériennes sur laquelle les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

I.5.3. Catégorisation des souches bactériennes

En fonction du résultat de l'antibiogramme, la souche bactérienne est catégorisée « sensible », « intermédiaire » ou « résistante ». La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise.

II. Généralité sur les notions de Qualité [78]

II.1. Le système de qualité

Le système de qualité constitue l'organisation de l'ensemble des procédures, des processus et des moyens nécessaires pour mettre en œuvre le management par la qualité. Il doit être permanent et doit conserver une traçabilité des contrôles effectués et de l'efficacité des actions préventives et correctives.

II.2. La qualité

La qualité est l'aptitude d'un produit, d'un procédé ou d'un service rendu à satisfaire les besoins exprimés et implicites de l'utilisateur.

II.3. L'Assurance Qualité

Elle constitue l'ensemble des actions préétablies et systématiques nécessaires pour qu'un produit ou un service satisfasse aux exigences de qualité.

II.4. Contrôle de Qualité Externe (CQE)

Selon l'OMS, le CQE permet au biologiste de faire évaluer la qualité de son activité par un laboratoire national de référence. Alors que le contrôle de qualité externe sert à la vérification de

l'exactitude des analyses et facilite la comparaison avec d'autres méthodes (dont les méthodes de référence).

II.5. Contrôle de Qualité Interne (CQI)

Selon l'OMS, le CQI est défini comme un ensemble de procédures pour évaluer de manière continue le travail du laboratoire et les résultats rendus.

Le GBEA le définit comme " ensemble des procédures mises en œuvre dans un laboratoire en vue de permettre un contrôle de la qualité des résultats des analyses au fur et à mesure de l'exécution de ces analyses".

C'est un auto-contrôle indispensable pour organiser et assurer la validité des résultats d'analyse obtenus.

Le CQI est un élément indispensable de l'assurance qualité d'un laboratoire d'analyses médicales. Il permet au personnel et à la direction du laboratoire de juger si le processus analytique est sous contrôle et si les résultats du laboratoire peuvent être utilisés à des fins diagnostiques et thérapeutiques. Le CQI permet de vérifier principalement la précision et de façon subsidiaire (en cas d'utilisation de matériel de contrôle accompagné de valeurs de référence déclarées), l'exactitude.

Le but du contrôle de qualité est de détecter, d'évaluer et de corriger les erreurs dues à un défaut des étapes d'exécution des résultats d'analyses, des conditions de l'environnement ou des conditions d'exécution de l'opérateur avant que les résultats du patient ne soient rendus.

Le contrôle de qualité doit être réalisé à différentes étapes de la méthode de diffusion (milieu Mueller Hinton, ou/et antibiotiques). Tout microbiologiste doit contrôler la technique de l'antibiogramme et ce contrôle doit être permanent.

II.6. Procédures

Les procédures sont des opérations à effectuer, des précautions à prendre et des mesures à appliquer figurant sur des documents de qualité propres à chaque laboratoire.

Elles peuvent comporter des modes opératoires détaillés. Ces procédures et modes opératoires associés au contrôle de qualité sont un élément du système d'assurance de qualité. L'enregistrement décrit les procédures et les modes opératoires qui concernent toutes les étapes de l'analyse, depuis le prélèvement de l'échantillon biologique jusqu'au rendu des résultats. Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer de procédures et de modes

opératoires écrits, datés et techniquement validés, afin d'assurer la qualité des résultats et la conformité au guide et/ou à la norme.

Dans la réalisation d'antibiogramme standard, le contrôle de qualité interne est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures commises à la phase analytique pour y remédier immédiatement [9].

Le CA-SFM édicte annuellement les conditions techniques générales de réalisation de l'inoculum, du milieu, de l'ensemencement, et les critères d'interprétation de lecture pour l'antibiogramme en milieu gélosé. Par ailleurs, il définit également les modalités des contrôles internes permettant de valider la technique d'antibiogramme par diffusion. Cette technique doit être contrôlée régulièrement, et au minimum une fois par mois, avec des souches de référence pour lesquelles des diamètres cibles sont définis pour un certain nombre de couples antibiotique-bactérie. 10

Plusieurs souches de référence sont disponibles (exemple : *Escherichia coli* CIP 76.24, *Pseudomonas aeruginosa* CIP 76.110, *Staphylococcus aureus* CIP 76.25 et *Providencia stuartii* CIP 107808 [2]. Ces souches de références testées dans mêmes conditions opératoires que celles décrites pour les bactéries isolées.

DEUXIEME PARTIE: TRAVAIL PERSONNEL

I. Contrôle de qualité Interne de l'antibiogramme standardisé

Le CQI doit être réalisé pour s'assurer de la validité des résultats obtenus lors de l'antibiogramme. On utilise alors des souches bactériennes de référence pour lesquelles on doit obtenir des valeurs de concentrations minimales inhibitrices ou de diamètres d'inhibition situées à l'intérieur de fourchettes de valeurs prédéfinies [8].

Les souches de référence sont testées dans les mêmes conditions opératoires que celles pour les bactéries isolées de prélèvements biologiques. Il est recommandé de réaliser le CQI deux fois par semaine ou au moins une fois avec une souche de référence [9].

L'interprétation des zones d'inhibitions doit être basée sur des critères établis par les sociétés savantes (EUCAST, CLSI). L'instauration d'un programme de contrôle de qualité interne permet d'évaluer, de corriger et de valider les processus aboutissant au report des résultats de l'antibiogramme aux patients à des fins diagnostiques et thérapeutiques [9].

Le CQI de l'antibiogramme permet d'assurer [9] :

- la précision et fiabilité de la technique des testes de sensibilité.
- la performance des réactifs utilisés dans cette technique.
- la performance du personnel effectue les testes de sensibilité et la lecture.
- la prévention de la détérioration des performances
- une identification de la nature des erreurs et de les corriger.

Le CQI permet aussi :

- la validation des processus de la méthode de diffusion
- la détection immédiate des erreurs afin d'apporter les actions correctives immédiates
- de contrôler le bon fonctionnement des instruments
- de contrôler la stabilité des réactifs utilisés
- de contrôler la reproductibilité des techniques

Le CQI de l'antibiogramme doit être réalisé au moins une fois par semaine pour une souche de contrôle. Plusieurs souches de référence peuvent être utilisées :

- *Echerichia coli* ATCC 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Haemophilus influenzae* ATCC 49247 (CIP 104604)

Des résultats erronés peuvent survenir, à moins que le personnel n'adhère strictement aux exigences de la technique. Les réactifs, le milieu de culture peuvent influencer la taille de la zone d'inhibition et par conséquent l'interprétation des résultats, par conséquent, tous ces facteurs doivent donc être soigneusement contrôlés [9].

I.1. Contrôle du milieu préparé et des antibiotiques utilisés [8, 9]

Le contrôle de qualité doit se faire à chaque nouveau lot de Mueller-Hinton et/ou d'antibiotiques. Ce travail de contrôle doit être permanent. Il doit évaluer chaque nouveau lot.

I.1.1. Contrôle du milieu préparé 10

Le CA-SFM édicte annuellement les conditions techniques générales de milieu, d'inoculum d'ensemencement et de lecture pour la méthode en milieu gélosé.

Le milieu recommandé pour la technique de diffusion en milieu gélosé est la gélose Mueller-Hinton (M.H.), qui doit être préparée selon les instructions du fournisseur avec une épaisseur de 4 mm et un pH entre 7,2 et 7,4.

La concentration en thymidine doit être bien contrôlée. Une concentration trop élevée en thymidine ou thymine entraîne une réduction des diamètres d'inhibition autour des disques de sulfamides et de triméthoprime. Pour contrôler la concentration en thymidine ou thymine, il suffit de tester le milieu MH avec la souche de référence *E. faecalis* ATCC 29212. Un diamètre d'inhibition supérieure ou égale de 20 mm doit être observé pour ces deux antibiotiques.

La concentration en cations divalents doit être bien dosée. En effet, une concentration trop élevée en ions Ca^{2+} et Mg^{2+} entraîne une réduction des zones d'inhibition pour les aminosides sur les souches de *P. aeruginosa*, alors que de faibles concentrations donnent des zones d'inhibition trop grandes. Les concentrations recommandées sont de 50 à 100 mg/l pour le calcium et de 20 à 35 mg/l pour le magnésium.

Les ions Zn^{2+} influencent l'activité des carbapénèmes

I.1.2. Contrôle de qualité des disques d'antibiotiques

Avant d'utiliser tout disque d'antibiotiques, il faut toujours vérifier la date de péremption, surtout pour les bêta-lactamines, ainsi que la charge des disques.

Le stock de disques d'antibiotiques doit être conservé à -20°C dans leur étuis correctement rebouchés. Les distributeurs des disques d'antibiotiques sont conservés à $+4^{\circ}\text{C}$.

Tout disque mouillé ou conservé à la température ambiante ne devrait pas être utilisé
Les cartouches doivent être retirés du congélateur 1 à 2 heures avant leur utilisation.

I.2. Contrôle de l'inoculum

L'inoculum est variable selon les germes à étudier. Il doit être préparé à partir de colonies fraîches obtenues après culture de 18h à 24 heures d'incubation et de l'eau physiologique. La densité de l'inoculum est ajustée grâce à un densitomètre ou une gamme d'étalon.

I.3. Ensemencement et incubation des boîtes

Les boîtes de Pêtri contenant la gélose sont d'abord séchées à l'étuve à 37°C. Les milieux sont ensemencés avec l'inoculum dilué ou non (en fonction du germe étudié) par écouvillonnage (Kirby-Bauer) ou par inondation.

Pour la technique d'écouvillonnage, il faut tremper un écouvillon stérile sec dans l'inoculum puis éliminer l'excès en pressant l'écouvillon contre les parois du tube. L'ensemencement se fait en stries sur toute la surface de la boîte en trois reprises en faisant tourner la boîte de Pêtri de 60° après chaque application. Il faut laisser sécher la gélose pendant au moins 15 minutes à température ambiante avant de déposer les disques d'antibiotiques à l'aide d'un distributeur de disques. Une distance de 30 mm doit séparer deux disques d'antibiotique et une distance de 15 mm entre le disque et le bord de la boîte de Pêtri.

Pour la technique d'inondation, il faut veiller à ce que la gélose soit inondée de manière homogène et bien séchée après avant le dépôt des disques.

Pour une boîte ronde de 90 mm, on peut disposer au maximum 6 disques alors que sur boîte carrée de 120 mm, 16 disques peuvent être disposés.

Une fois que le disque entre en contact avec la gélose, il ne doit plus être déplacé sinon le diamètre de la zone d'inhibition peut être affecté. Les boîtes sont ensuite incubées selon le germe étudié en atmosphères aérophile, microaérophile ou anaérobie pendant 18 à 24 heures (ou plus si germe difficile) à l'étuve.

Le choix des disques d'antibiotiques à tester est fonction de la famille, du genre voir de l'espèce bactérienne étudiée.

I.4. Lecture des diamètres d'inhibition et interprétation 3

La lecture des diamètres d'inhibition doit être réalisée après 18h à 24h d'incubation (ou plus pour certains germes particuliers) sous un bon éclairage, avec un pied à coulisse ou à défaut une règle graduée.

L'utilisation d'un inoculum bien standardisé et d'un ensemencement correct doivent conduire à une culture confluyente. Les colonies bactériennes doivent être réparties sur toute la surface de la gélose de façon à obtenir des zones d'inhibition nettes. La présence de colonies isolées indique que l'inoculum est trop faible, dans ce cas il faut refaire le test. Il en est de même pour un inoculum lourd, qui se matérialise par une pousse bactérienne abondante avec une résistance de tous les disques testés.

L'utilisation d'une souche de référence permet de valider les résultats si les diamètres d'inhibition mesurés sont dans l'intervalle de valeurs attendues.

Les valeurs des diamètres d'inhibition sont interprétées en fonction des intervalles de valeurs critiques fournis par les sociétés savantes (EUCAST, CA-SFM, CLSI, etc.).

La souche testée est catégorisée sensible, intermédiaire ou résistante en fonction du diamètre mesuré.

Si le diamètre mesuré est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique supérieur, la souche est catégorisée résistante.

Si le diamètre mesuré est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique inférieure, la souche est sensible.

Si le diamètre mesuré est compris entre les diamètres correspondant aux deux concentrations critiques, la souche est de sensibilité intermédiaire.

La mesure du diamètre d'inhibition ne suffit pas toujours pour déterminer le phénotype de résistance de la souche testée, l'interprétation doit prendre en compte les règles établies par les sociétés savantes.

I. 5. Contrôle des souches références 3

Les souches de référence recommandées pour les tests de sensibilité doivent provenir d'organismes reconnus. Pour assurer leur stabilité, les souches de référence doivent être manipulées et stockées en suivant les instructions du fournisseur. Ces souches de contrôle de qualité permettent au laboratoire de vérifier tout le processus de la technique d'antibiogramme (milieux utilisés, inoculum bactérien, disques antibiotique, etc.).

La validité des diamètres d'inhibition obtenus avec les souches de référence en conformité avec avec les intervalles de diamètres attendus permet de valider la technique d'antibiogramme et par conséquent les diamètres d'inhibition obtenus avec la souche isolée du prélèvement pathologique.

Si les diamètres obtenus sont en dehors des valeurs attendues, tout le processus de la technique d'antibiogramme doit être revue. Dans ce cas, il faut surtout vérifier la qualité des milieux préparés, la bonne conservation et la date de péremption des disques d'antibiotique, la bonne calibration du densitomètre. Les conditions de stockage des disques contenant les antibiotiques doivent aussi être respectées. Les souches de référence doivent être testées tous les jours, mais en pratique, il est recommandé de faire leur antibiogramme de manière hebdomadaire.

Quelques exemples de souches de contrôle recommandées :

- *Escherichia coli* ATCC 25922 (CIP76.24)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (CIP76.25)
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (CIP76.110)
- *Enterococcus faecalis* ATCC29212 (CIP103214)

II Principales sources d'erreurs en antibiogramme standard [9]

Différents acteurs interviennent le processus de la réalisation de l'antibiogramme.

Chacun de ces acteurs, comporte un risque intrinsèque.

En appliquant les principes d'Ishikawa, cinq éléments peuvent influencer la réalisation et générer de faux résultats en analysant le processus de la technique de l'antibiogramme.

- L'homme (Main d'œuvre)

Il y a une intervention humaine au moment de la réalisation (par un technicien) et de la lecture.

La réalisation comprend : sélection de la colonie, préparation de l'inoculum, sélection de la gélose, ensemencement, sélection et dépôt des disques imprégnés d'antibiotiques, sélection de l'atmosphère d'incubation. Le technicien a sa propre habileté et son savoir faire. Il risque de ne pas ou de mal faire. Enfin, la lecture visuelle de l'antibiogramme est soumise à une variation de l'œil de l'opérateur.

- Les bactéries (Matière)

La colonie bactérienne sur laquelle l'antibiogramme est réalisé à ses propres exigences (métaboliques, thermiques, respiratoires), ses propres délais de croissance et sensibilités aux

antibiotiques. Si ces exigences ne sont pas respectées, elle risque de ne pas donner de résultats contributifs.

- La Méthode de travail

Les résultats risquent d'être fluctuants entre les différents techniciens du poste si une méthode de travail unique n'est pas appliquée par l'ensemble du personnel. Une procédure doit être rédigée pour une harmonisation de la technique au laboratoire.

- Les réactifs utilisés (Milieu)

Les disques d'antibiotiques sont susceptibles de se décharger lors de leur conservation au cours du temps si l'hygrométrie et la température de conservation ne sont pas adaptées.

- Le Matériel

En l'absence de maintenances préconisées par le fournisseur, le matériel utilisé dans le processus de réalisation risque de ne pas donner de résultats reproductibles. De même, les logiciels qui pilotent le matériel risquent de donner une interprétation fautive de la mesure si leur mise à jour n'est pas effectuée.

Ainsi, différents paramètres peuvent induire des erreurs lors de la réalisation de l'antibiogramme et par conséquent influencer l'interprétation des résultats.

II.1 La lecture des diamètres des zones d'inhibition

Les sources d'erreurs peuvent être :

- Une lecture prématurée des diamètres
- Une erreur de mesure avec une zone d'inhibition peu nette
- Une erreur de transcription
- Une erreur d'interprétation

II.2. Le milieu de culture

- Utilisation d'un milieu de culture inapproprié
- Diamètre de la gélose non respectée ou surface non horizontale ;
- Concentration inappropriée en NaCl, et en cations divalents ;
- Teneur élevée ou faible en thymine ;
- Gélose trop humide ou trop sèche ;
- Dessiccation du milieu de culture
- Leur épaisseur et l'hygrométrie influent sur la diffusion des antibiotiques

II .3. L'inoculum

- Inoculum non standardisé
- Suspension bactérienne contaminée
- Ensemencement de l'inoculum de manière irrégulière

II.4. Les disques d'antibiotiques

- Mauvaise stabilité des disques
- Mauvaise conservation (température, humidité, etc.)
- La date de péremption dépassée
- Mauvaise application des disques à surface de la gélose

II. 5. Conditions de l'incubation

- Durée d'incubation (trop longue ou courte)
- Température trop basse (ouverture fréquente des étuves)
- Atmosphère d'incubation inadéquate

II .6 Souches de référence et contrôle de qualité

- Conditions de stockage inadéquates
- Erreurs de manipulation
- Absence contrôles de qualité réguliers de l'antibiogramme;
- Mauvaise de conservation des souches de référence.

CONCLUSION

L'instauration d'un contrôle de qualité interne lors de la réalisation de l'antibiogramme est indispensable pour la validation de cette technique.

Le CQI permet de dépister les erreurs éventuelles tout le long du processus de l'antibiogramme.

Pour une bonne interprétation du CQI, les souches de référence doivent être bien conservées et manipulées en respectant les recommandations du fournisseur.

Les souches de référence doivent être contrôlées idéalement deux fois par semaine sinon une fois par semaine avec au moins une souche de contrôle.

La pérennité de ce contrôle permettra de détecter les erreurs émanant des cinq éléments d'Ishikawa (Main d'œuvre, Matière, Méthode de travail, Milieu, Matériel).

Ainsi, tout résultat hors norme observé avec le CQI appelle à revoir tout le processus de la réalisation de l'antibiogramme.

Tout laboratoire de bactériologie doit avoir au minimum les souches de référence recommandées par le CA-SFM.

La validation du CQI permet de garantir les résultats rendus au patient pour une bonne prise en charge thérapeutique sur la base du profil de sensibilité de la souche testée, facilitant le choix de l'antibiotique adapté par le clinicien.

Néanmoins, la validation du CQI ne doit pas mettre en veilleuse le dialogue clinico-biologiste indispensable pour les germes multi résistants.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Samb N. Etude de la sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* et de *Streptococcus pyogenes* dans les Infections Respiratoires Aigües : détermination d'activité bactériostatique et bactéricide d'antibiotiques seuls ou en association sur *S. aureus*
Thèse pharm. n° 56. Dakar, 2015.
2. Bakhoun I M N S. Contrôle de qualité et validation de différentes méthodes d'identification bactérienne
Thèse pharm. n° 08. Dakar, 2004.
3. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2015
4. Milieux de culture.
www.dmipfmv.ulg.ac.be/bacvet/m/cours3VMB/TP/milieux.doc (accès 14 septembre 2015 12 :30)
5. *Classification des antibiotiques*
www.sante.dz/aarn/classification.pdf (dernier accès 14 septembre 2015 à 11 :39)
6. *Généralité sur la qualité*
www.hcsp.fr/Explore.cgi/Telecharger?NomFichier=ad353637.pdf (dernier accès 14 septembre 2015 à 11 :15)
7. *Contrôle de qualité en biologie médicale.*
www.dirlabosn.org/assurance_qualite/Controles_de_Qualite.pdf (dernier accès 15 septembre 2015 à 12 :06)
8. Cofrac. Les contrôles de la qualité analytique en biologie médicale. LAG GTA 06-rév.00-juillet 2015.
9. Védý S. Contrôle de qualité interne en antibiologie : retour d'expérience.
Ann Biol Clin 2012 ; 70 (3) : 341-52.
10. M. Haenni , E. Jouy, E. Morignat, J.-Y. Madec. Amélioration du référentiel vétérinaire français (CA-SFM vétérinaire) pour la validation des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé 2011 euroreference page 10