

	FICHE	Vérification et validation de méthode de Détermination des CMI par méthode Etest	
	Réf. :	Date d'application : jj mois aaaa	Page : 1/10

Rédaction		Validation		Approbation
Nom, fonction	date	Nom, fonction	Date	
Christine SPECHT Eric DANNAOUI	14/06/2012	Eric DANNAOUI Biologiste MCUPH	15/06/2012	

Groupe d'auteurs :

Nature des modifications :

Examen de biologie médicale : Détermination des CMI par méthode Etest

Service concerné :

Laboratoire de mycologie

Description de la méthode

Analyte/Mesurande :	
Principe de la Mesure :	Evaluation d'inhibition de pousse
Méthode de mesure :	Lecture visuelle
Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...) :	Souche fongique
Type de récipient, Additifs (tubes, ...) :	
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :	Dilution en solution saline à 0,9 % de NaCL
Unités :	µg/ml
Intervalles de référence ¹ :	
Marquage CE automate/réactif (Oui/Non) :	OUI
Instrument (analyseur automatique, appareil....) :	
Dénomination	NA
Nom du fournisseur :	
N° série :	
Référence du/des réactif(s) :	BIOMERIEUX
Nom du fournisseur :	Bandelettes Etest : 510800, 526300, 510900, 525800, 532400, 532800, 532100
Référence fournisseur :	AES Laboratoires Milieux RPMI précoulés : AEB122180, AEB122182

Bibliographie : Annexe 1

Mise en œuvre

Opérateurs (Habilitation) :	Dr Eric DANNAOUI Biologiste MCUPH
Procédure de validation :	LABM/PR/037
Procédure de gestion de la portée flexible :	LABM/PR/035
Période d'évaluation :	NA
Autorisation de mise en service par (nom du biologiste) :	Pr Laurent GUTTMANN Chef de service
Date de mise en service :	20 juin 2000

Maîtrise des risques

	FICHE	Vérification et validation de méthode de Détermination des CMI par méthode Etest	
	Réf. :	Date d'application : jj mois aaaa	Page : 2/10

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise (MO, type de vérification...)
Type d'échantillon primaire (urine, sang, Type de récipient (tubes, ...), Additifs :	Souches fongiques Savoir maîtriser la technique de réalisation d'une CMI	MO-MY003-ATFG Réalisation d'un antifongigramme
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...):	aucun	
Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.	LABM/FO/003	Habilitation
Conditions ambiantes requises (ex : température, organisation des locaux, éclairage,...) :	Enceintes thermiques T° 35 °C	Vérification quotidienne
Référence du réactif (référence fournisseur, version) :	Souches de référence <i>Candida krusei</i> ATCC6258 <i>Candida parapsilosis</i> ATCC22019	
Matériau de références (témoins) :		
Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques	NA	NA

Evaluation des performances de la méthode

La technique du Etest est une technique de détermination des CMI par diffusion en milieu gélosé.

But : vérifier que pour une souche donnée, les CMI obtenues sont dans les fourchettes attendues. Pour une espèce donnée, la CMI peut être influencée par l'inoculum, la température d'incubation ainsi que de la lecture des zones d'inhibition. Nous avons donc réalisé plusieurs expériences dans les mêmes conditions afin de vérifier la reproductibilité de cette technique

Commentaires :

La validation de méthode a été réalisée en testant régulièrement les souches de contrôles ATCC. Un résultat est considéré comme conforme lorsque la valeur de CMI est dans la fourchette attendue.

63 déterminations ont été réalisées (9 tests pour 7 antifongiques).

Les résultats (Annexe 2) sont conformes aux valeurs attendues (tableau 1)

Tableau 1 : Valeurs cibles des Contrôles internes de qualité

ANTIFUNGAL MIC µg/mL	CODE	QUALITY CONTROL	MIC µg/mL
Amphotericin B 0.002-32	AP	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.25 - 1
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.5 - 2
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.125 - 0.5
Anidulafungin 0.002-32	AND	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.5 - 4
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.016 - 0.125
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.002 - 0.008
Caspofungin 0.002-32	CS	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.25 - 2
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.25 - 1
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.064 - 0.25
Fluconazole 0.016-256	FL	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 1 - 8
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 128 - ≥256
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.125 - 0.5
Flucytosine 0.002-32	FC	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.064-0.25
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 ≥32
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.5 - 2
Itraconazole 0.002-32	IT	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.064 - 0.25
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.25 - 1
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.064 - 0.25
Ketoconazole 0.002-32	KE	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.032 - 0.125
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.25 - 1
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.008 - 0.032
Micafungin 0.002-32	MYC	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.25 - 2
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.032 - 0.25
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.004 - 0.032
Posaconazole 0.002-32	POS	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.032 - 0.25
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.125 - 0.5
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.032 - 0.125
Voriconazole 0.002-32	VO	<i>C. parapsilosis</i>	ATCC 22019 0.016 - 0.064
		<i>C. krusei</i>	ATCC 6258 0.25 - 1
		<i>C. albicans</i>	ATCC 90028 0.004 - 0.016

Annexe 1 : BIBLIOGRAPHIE

Parasitologie, Mycologie, ANOFEL, Association Française des Enseignants de Parasitologie, 1995-97, Edition CR Format Utile, 7^{ème} édition, 2002,
www.med.univ-angers.fr/service_serveur/invite/anofel/.

Quality assurance: quality improvement, quality control, and test validation. D.L. Sewell et R.B. Schifman, 1995, ASM Press (ed.), Manual of Clinical Microbiology. Washington D.C. p 55-66.

Annexe 2 : Ensemble des données de la vérification

Contrôle de Qualité : CMI/Amphotéricine B

date	Souche	Ampho lot	Ampho 24h	Ampho 48h
12/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001281130	0,125	0,25
12/11/2012	C. krusei 6258	1001281130	0,094	0,5
12/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001281130	0,016	0,25
13/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001281130	0,094	0,125
13/11/2012	C. krusei 6258	1001281130	0,125	0,5
13/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001281130	0,016	0,25
14/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001281130	0,125	0,25
14/11/2012	C. krusei 6258	1001281130	0,032	0,5
14/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001281130	ND	0,25
03/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001601850	0,125	0,25
03/12/2012	C. krusei 6258	1001601850	0,25	0,5
03/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001601850	0,125	0,25
04/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001601850	0,25	0,25
04/12/2012	C. krusei 6258	1001601850	0,125	0,5
04/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001601850	0,064	0,25
05/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001601850	0,125	0,25
05/12/2012	C. krusei 6258	1001601850	0,125	0,5
05/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001601850	0,032	0,38
06/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001601850	0,125	0,25
06/12/2012	C. krusei 6258	1001601850	0,064	5
06/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001601850	0,032	0,25
11/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001601850	0,125	0,25
11/12/2012	C. krusei 6258	1001601850	0,032	0,5
11/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001601850	0,023	0,25
14/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001281130	0,25	0,25
14/01/2013	C. krusei 6258	1001281130	0,25	0,5
14/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001281130	0,25	0,25
16/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001281130	0,25	0,25
16/01/2013	C. krusei 6258	1001281130	0,125	0,5
16/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001281130	0,064	0,38

Contrôle de Qualité : CMI/ 5-Fluorocytosine

date	Souche	5FC lot	5FC 24h	5FC 48h
12/11/2012	C. albicans ATCC90028	10001497680	0,125	0,5
12/11/2012	C. krusei 6258	10001497680	> 32	> 32
12/11/2012	C. parapsilosis 22019	10001497680	0,016	0,064
13/11/2012	C. albicans ATCC90028	10001497680	0,094	1
13/11/2012	C. krusei 6258	10001497680	> 32	> 32
13/11/2012	C. parapsilosis 22019	10001497680	0,012	0,064
14/11/2012	C. albicans ATCC90028	10001497680	0,016	0,5
14/11/2012	C. krusei 6258	10001497680	> 32	> 32
14/11/2012	C. parapsilosis 22019	10001497680	ND	0,064
03/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001497680	0,064	0,25
03/12/2012	C. krusei 6258	1001497680	> 32	> 32
03/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001497680	0,064	0,064
04/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001497680	0,25	0,75
04/12/2012	C. krusei 6258	1001497680	> 32	> 32
04/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001497680	0,032	0,064
05/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001497680	0,047	0,5
05/12/2012	C. krusei 6258	1001497680	> 32	> 32
05/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001497680	0,016	0,064
06/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001497680	0,125	1
06/12/2012	C. krusei 6258	1001497680	> 32	> 32
06/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001497680	0,023	0,125
11/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001497680	0,125	0,5
11/12/2012	C. krusei 6258	1001497680	> 32	> 32
11/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001497680	0,008	0,064
14/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001497680	0,5	1
14/01/2013	C. krusei 6258	1001497680	> 32	> 32
14/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001497680	0,064	0,125
16/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001497680	1	1
16/01/2013	C. krusei 6258	1001497680	ND	> 32
16/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001497680	0,125	0,25

Contrôle de Qualité : CMI/Fluconazole

date	Souche	Fluco lot	Fluco 24h	Fluco 48h
12/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,5	0,5
12/11/2012	C. krusei 6258	1001310200	64	> 256
12/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	1	1
13/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,5	0,25
13/11/2012	C. krusei 6258	1001310200	> 256	> 256
13/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	1,5	2
14/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,25	0,125
14/11/2012	C. krusei 6258	1001310200	> 256	> 256
14/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	ND	2
03/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,125	0,125
03/12/2012	C. krusei 6258	1001310200	128	> 256
03/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	2	1
04/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,25	0,25
04/12/2012	C. krusei 6258	1001310200	> 256	> 256
04/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	1	1
05/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,25	0,19
05/12/2012	C. krusei 6258	1001310200	> 256	> 256
05/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	1	1,5
06/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,38	0,125
06/12/2012	C. krusei 6258	1001310200	64	> 256
06/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	1,5	2
11/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,25	0,25
11/12/2012	C. krusei 6258	1001310200	32	> 256
11/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001310200	0,75	1
14/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,5	0,25
14/01/2013	C. krusei 6258	1001310200	> 256	> 256
14/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001310200	1,5	1
16/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001310200	0,125	0,125
16/01/2013	C. krusei 6258	1001310200	ND	> 256
16/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001310200	2	1

date	Souche	Itra lot	Itra 24h	Itra 48h
12/11/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2216	0,125	0,064
12/11/2012	C. krusei 6258	BJ 2216	0,75	1
12/11/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2216	0,25	0,25
13/11/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2216	0,125	0,125
13/11/2012	C. krusei 6258	BJ 2216	1	1
13/11/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2216	0,064	0,25
14/11/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2216	0,25	0,25
14/11/2012	C. krusei 6258	BJ 2216	0,25	1
14/11/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2216	ND	0,25
03/12/2012	C. albicans ATCC90028	10011459510	0,25	0,125
03/12/2012	C. krusei 6258	10011459510	0,5	0,75
03/12/2012	C. parapsilosis 22019	10011459510	0,125	0,25
04/12/2012	C. albicans ATCC90028	10011459510	0,125	0,064
04/12/2012	C. krusei 6258	10011459510	0,5	0,75
04/12/2012	C. parapsilosis 22019	10011459510	0,064	0,25
05/12/2012	C. albicans ATCC90028	10011459510	0,25	0,19
05/12/2012	C. krusei 6258	10011459510	0,064	0,5
05/12/2012	C. parapsilosis 22019	10011459510	0,016	0,25
06/12/2012	C. albicans ATCC90028	10011459510	0,064	0,064
06/12/2012	C. krusei 6258	10011459510	0,19	0,5
06/12/2012	C. parapsilosis 22019	10011459510	0,047	0,125
11/12/2012	C. albicans ATCC90028	10011459510	0,032	0,064
11/12/2012	C. krusei 6258	10011459510	0,125	0,5
11/12/2012	C. parapsilosis 22019	10011459510	0,032	0,125
14/01/2013	C. albicans ATCC90028	10011459510	0,25	0,125
14/01/2013	C. krusei 6258	10011459510	0,25	0,5
14/01/2013	C. parapsilosis 22019	10011459510	0,064	0,125
16/01/2013	C. albicans ATCC90028	10011459510	0,25	0,064
16/01/2013	C. krusei 6258	10011459510	0,5	0,5
16/01/2013	C. parapsilosis 22019	10011459510	0,25	0,125

date	Souche	Caspo lot	Caspo 24h	Caspo 48h
12/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,125	0,125
12/11/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,25	0,5
12/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,025	0,5
13/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,032	0,064
13/11/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,25	0,5
13/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,25	0,5
14/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,032	0,125
14/11/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,125	0,25
14/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	ND	1
03/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,125	0,064
03/12/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,25	0,5
03/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,5	0,5
04/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,064	0,064
04/12/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,5	0,5
04/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,5	0,75
05/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,125	0,125
05/12/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,25	0,38
05/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,38	1
06/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,064	0,125
06/12/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,5	1
06/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,38	1
11/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,032	0,125
11/12/2012	C. krusei 6258	1001460130	0,38	0,5
11/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,25	1
14/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,064	0,125
14/01/2013	C. krusei 6258	1001460130	0,5	1
14/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,5	1
16/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001460130	0,125	0,19
16/01/2013	C. krusei 6258	1001460130	ND	0,75
16/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001460130	0,5	0,75

date	Souche	Vori lot	Vori 24h	Vori 48h
12/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,016	0,012
12/11/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,125	0,25
12/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,016	0,023
13/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,012	0,008
13/11/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,25	0,5
13/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,016	0,032
14/11/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,008	0,012
14/11/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,047	0,5
14/11/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	ND	0,023
03/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,008	0,004
03/12/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,25	0,25
03/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,023	0,016
04/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,008	0,004
04/12/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,125	0,25
04/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,016	0,016
05/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,006	0,008
05/12/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,094	0,25
05/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,016	0,032
06/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,006	0,004
06/12/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,125	0,25
06/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,012	0,032
11/12/2012	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,006	0,006
11/12/2012	C. krusei 6258	1001281170	0,094	0,25
11/12/2012	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,08	0,016
14/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,016	0,004
14/01/2013	C. krusei 6258	1001281170	0,064	0,25
14/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,023	0,023
16/01/2013	C. albicans ATCC90028	1001281170	0,012	0,004
16/01/2013	C. krusei 6258	1001281170	ND	0,25
16/01/2013	C. parapsilosis 22019	1001281170	0,016	0,016

Contrôle de Qualité : CMI/Posaconazole

date	Souche	Posa lot	Posa 24h	Posa 48h
------	--------	----------	----------	----------

12/11/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,032	0,032
12/11/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,125	0,25
12/11/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	0,008	0,047
13/11/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,047	0,032
13/11/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,125	0,25
13/11/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	0,012	0,064
14/11/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,032	0,032
14/11/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,125	0,25
14/11/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	ND	0,047
03/12/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,032	0,032
03/12/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,25	0,25
03/12/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	0,032	0,032
04/12/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,032	0,032
04/12/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,25	0,38
04/12/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	0,032	0,047
05/12/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,008	0,032
05/12/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,094	0,25
05/12/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	0,012	0,047
06/12/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,012	0,032
06/12/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,125	0,25
06/12/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	0,012	0,032
11/12/2012	C. albicans ATCC90028	BJ 2219	0,008	0,032
11/12/2012	C. krusei 6258	BJ 2219	0,094	0,25
11/12/2012	C. parapsilosis 22019	BJ 2219	0,008	0,064
14/01/2013	C. albicans ATCC90028	1000683870	0,125	0,032
14/01/2013	C. krusei 6258	1000683870	0,064	0,047
14/01/2013	C. parapsilosis 22019	1000683870	0,032	0,047
16/01/2013	C. albicans ATCC90028	1000683870	0,032	0,032
16/01/2013	C. krusei 6258	1000683870	ND	0,125
16/01/2013	C. parapsilosis 22019	1000683870	0,016	0,047