

## **EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE : Procédure de vérification de la technique**

**Etude de la sensibilité des levures aux antifongiques par détermination des CMI par la méthode Etest  
Technique qualitative avec une détermination quantitative  
PORTEE A**

### **DESCRIPTION DE LA METHODE**

<b>Analyte/Mesurande :</b>	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des antifongiques en milieu gélosé
<b>Principe de la Mesure :</b>	Détermination de la CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) des antifongiques à l'aide de bandelette imprégnée d'un gradient exponentiel d'antifongique, pour une souche donnée en milieu gélosé. La bandelette E-test de l'antifongique est appliquée sur une gélose RPMI après ensemencement (à l'aide d'un ensemenceur) avec la souche à tester. La lecture de la CMI de l'antifongique s'effectue au point d'intersection de l'ellipse et de la bandelette, après incubation.
<b>Méthode de mesure :</b>	Lecture visuelle
<b>Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...)</b> :	Souche fongique
<b>Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...)</b> :	suspension en solution saline à 0.85% de NaCl
<b>Unités :</b>	$\mu\text{g/ml}$
<b>Intervalles de référence<sup>1</sup> :</b>	Cf. chapitre performances de la méthode (valeurs cibles/souche ATCC testée et /antifongique)

<sup>1</sup> Indiquer les valeurs de référence si différentes en fonction de l'anticoagulant. Tenir compte du sexe, âge...

<b>Marquage CE (Oui/Non) :</b>	Oui														
<b>Codage C.N.Q. (s'il existe) :</b>	NA														
<b>Référence du réactif (référence fournisseur, version notice) :</b>	<p><u>Milieu RPMI</u> précoulés en boite Référence AEB122182</p> <p><b>Souches ATCC</b></p> <p><i>Candida albicans</i> ATCC 90028™  <i>Candida krusei</i> ATCC 6258™  <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019™</p> <p><b>Bandelettes E-test Biomérieux :</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Antifongique</th> <th>Référence (ancien/nouveau)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fluconazole</td> <td>510800/412350</td> </tr> <tr> <td>Voriconazole</td> <td>532800/412490</td> </tr> <tr> <td>Amphotéricine B</td> <td>526300/412249</td> </tr> <tr> <td>5 Fluorocytosine</td> <td>510900/412352</td> </tr> <tr> <td>Caspofungine</td> <td>532400/412269</td> </tr> <tr> <td>Micafungine</td> <td>535700/-</td> </tr> </tbody> </table> <p><u>NaCl</u> 0.85% Référence 20040</p> <p><u>Eau purifiée stérile</u> Référence AEB 110379</p>	Antifongique	Référence (ancien/nouveau)	Fluconazole	510800/412350	Voriconazole	532800/412490	Amphotéricine B	526300/412249	5 Fluorocytosine	510900/412352	Caspofungine	532400/412269	Micafungine	535700/-
Antifongique	Référence (ancien/nouveau)														
Fluconazole	510800/412350														
Voriconazole	532800/412490														
Amphotéricine B	526300/412249														
5 Fluorocytosine	510900/412352														
Caspofungine	532400/412269														
Micafungine	535700/-														

<b>MISE EN ŒUVRE</b>	
<b>Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode :</b>	Techniciens de Parasitologie Mycologie Stagiaire BTS : Xavier De Almeida Biogiste : J.Guitard
<b>Procédure de vérification initiale:</b>  EP-SA-PA-MYCO-ANA-PG-001	<p><b>1-Objet du document</b>  La détermination de la CMI antifongique par la méthode Etest est une technique permettant de tester la sensibilité des champignons <i>in vitro</i> en milieu gélosé.</p> <p>Le but de cette évaluation est de vérifier que les CMI obtenues avec les souches ATCC sont dans les fourchettes attendues, conformément aux données fournisseurs.</p> <p><b>2-Déroulement des tests de performance (résultats en annexe)</b>  La validation de la méthode Etest (conformité des milieux et réactifs utilisés) a été réalisée en testant les souches ATCC (<i>C.albicans</i> ATCC 90028™ – <i>C.krusei</i> ATCC 6258™ – <i>C.parapsilosis</i> ATCC 22019™) en 2013.</p> <p>Les antifongiques testés pour ces souches de référence, selon les pratiques de notre laboratoire : Amphotéricine B, 5Fluorocytosine, Fluconazole, Voriconazole, Caspofungine, Micafungine.</p> <p>Les limites acceptables de l'antifongique testé sont définies pour chaque souche ATCC par le fournisseur, basées sur les recommandations des sociétés savantes.</p> <p>Pour chaque espèce donnée, la CMI peut être influencée par l'inoculum, la température et la durée d'incubation ainsi que la lecture des zones d'inhibition.</p> <p>L'interprétation et la conclusion pour chaque test (cf annexe).</p> <p><b>3- CONCLUSION :</b>  Cf. annexe</p>
<b>Procédure de gestion de la portée flexible :</b>	EP-HUEP-QUAL-SMQ-PG-007
<b>Période d'évaluation :</b>	2013
<b>Date de mise en service :</b>	2004
<b>Autorisation de mise en service par :</b>	C.Hennequin

**Contrôle interne de qualité** : souches ATCC

Une souche ATCC est testée à chaque changement de lot de bandelette Etest et milieu gélosé RPMI (cf. tableau en annexe).

Les limites acceptables des CMI sont définies pour chaque souche ATCC testée en fonction de l'antifongique (cf. valeurs attendues – chapitre tests de performance)

Un écart de 2 graduations (une dilution) est toléré lors de la lecture.

**Contrôle externe de qualité** :

Notre laboratoire envisage de s'inscrire à partir de 2015 au contrôle externe de qualité sur l'antifongigramme organisé par UKNEQAS.

## MAITRISE DES RISQUES + 5M intégré

1 : criticité forte

2 : criticité moyenne

3 : criticité faible

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise	Criticité
<b>Type d'échantillon primaire :</b> culture levure (SCG et ChromAgar) à partir d'échantillon d'origine humaine	*Préparation de l'inoculum *ensemencement *incubation	Fiche technique E-test Guide Pratique Etest mars 2013 Référence 9305190002	1
<b>Prétraitement de l'échantillon</b>	Suspension de la souche dans du NaCl à 0.85 %	Fiche technique E-test	1
	Ajustement de la densité (unité Mc Farland)	Maintenance du densitomètre EP-SA-PA-MYCO-ANA-PT-003	
<b>Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.</b>	Personnel habilité	Habilitation du personnel EP-SA-PA-CADRE-ORP-PG-003/EP-SA-PA-PLUS-ORP-DE-008/EP-SA-PA-PLUS-ORP-DE-009/EP-SA-PA-PLUS-ORP-DE-010/EP-SA-PA-PLUS-ORP-DE-014/EP-SA-PA-PLUS-POS-DE-001	1
<b>Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage,...) :</b>	Atmosphère stérile	Entretien des PSM EP-SA-PA-EHS-THEM-DE-002	1

## MAITRISE DES RISQUES + 5M intégré

1 : criticité forte

2 : criticité moyenne

3 : criticité faible

Données d'entrée	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise	Criticité
Référence du réactif (référence fournisseur, version) :	Date de péremption	Feuille de suivi des réactifs EP-SA-PA-PLUS-GDA-PG-001/EP-SA-PA-PLUS-GDA-DE-005/EP-SA-PA-PLUS-GDA-DE-008/EP-SA-PA-PLUS-GDA-PG-001/EP-SA-PA-PLUS-ANA-MT-001	1
Matériaux de référence : Souches de contrôle	Souches ATCC (CQI) (cf référence réactif)	Préparation/Contrôle/Conservation souches (CQI)	1
Equipements : Exigences métrologiques* (définir les paramètres critiques) Exigences informatiques* spécifiques	PSM	Entretien des PSM (atmosphère stérile)	2
	Etuves (35°C)	Raccordement sur sonde et suivi métrologique des enceintes thermostatiques	1
	Congélateurs	Maintenance densitomètre et fiche de contrôle mensuel	1
	Densitomètre		

\* item à renseigner si nécessaire

## EVALUATION DES PERFORMANCES DE LA METHODE

Les tests de performance ont été réalisés à partir de souches de référence ATCC (*C. albicans* ATCC90028, *C. krusei* ATCC6258, *C. parapsilosis* ATCC22019), selon la méthode E test.

Les antifongiques testés : amphotericine B, 5 flucytosine, fluconazole, voriconazole, caspofungine, micafungine.

Le gradient couvre une plage de concentrations de 0.002 à 32 µg/ml ou 0.016 à 256 µg/ml en fonction de l'antifongique.

Les résultats de CMI sont exprimés en µg/ml avec une interprétation selon les valeurs attendues (cf fournisseur).

Un résultat est considéré comme conforme si valeur de CMI comprise dans la fourchette.

**Deux graduations d'écart (une dilution) sont tolérées pour la lecture des CMI.**

### **Sensibilité et spécificité diagnostiques (indispensable en portée B):**

Cf. résultats de l'étude EPICANDI, multicentrique, sur la diversité et sensibilité des *Candida* sp. En réanimation et en hématologie dans 8 hôpitaux universitaires. JMM 2012 :22,106-107.

## Répétabilité:

La détermination de CMI à l'aide des bandelettes Etest est réalisée 10 fois avec la souche ATCC *Candida albicans* 90028.

Nb tests	Date	RPMI 322429	<i>C.albicans 90028</i>									
			Ampho B 1002171230	5 Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002404950	Posaconazole 1002188790	Caspofungine 1002184140	Micafungine 1003119010	date	Lot RPMI	opérateur
1	17/10/13	Opérateur : FB	0.25	0.25	0.19	0.006	0.032	0.125	04/09/14	416849	FB	0.023
2			0.25	0.19	0.19	0.008	0.023	0.19				0.023
3			0.25	0.19	0.19	0.006	0.023	0.125				0.023
4			0.25	0.19	0.19	0.008	0.032	0.19				0.032
5			0.25	0.19	0.19	0.008	0.032	0.19				0.032
6			0.25	0.125	0.19	0.008	0.032	0.125				0.032
7			0.25	0.25	0.19	0.006	0.032	0.125				0.023
8			0.25	0.25	0.19	0.008	0.032	0.125				0.032
9			0.25	0.19	0.25	0.008	0.032	0.125				0.032
10			0.25	0.25	0.19	0.006	0.023	0.125				0.032
Conclusion			Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait			

**Conclusion :** Les valeurs de CMI sont dans les limites acceptables et la répétabilité est parfaite.

## Fidélité intermédiaire :

Les tests de validation de la reproductibilité de la technique ont été réalisés pour chaque antifongique sur les trois souches ATCC avec lecture à 24h et à 48h.

La micafungine n'a pas été testée en même temps que les autres antifongiques en 2013 (raison= utilisation validée par comité antiinfectieux du Groupement Hospitalier qu'en 2014).

### Valeurs obtenues par antifongique selon la souche ATCC

#### ATCC *Candida albicans*

##### Lecture a 24h

	Date	N° Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140	Micafungine 1003119010			
								Date	Lot RPMI	Opérateur	Résultat
1	30/10/13	322429	0.25	0.064	0.25	0.008	0.094	04/09/14	416849	FB	0.023
2		323823	0.25	0.19	0.19	0.012	0.094	10/09/14		IL	0.016
3		322429	0.38	0.094	0.38	0.012	0.064			NI	0.012
4	07/11/13	322429	0.19	0.064	0.125	0.004	0.064			PF	0.016
5		322429	0.094	0.125	0.125	0.004	0.064			SV	0.016
6		322429	0.19	0.094	0.125	0.008	0.094			FB	0.016
7	14/11/13	322429	0.25	0.094	0.125	0.006	0.094	18/09/14	416849	SV	0.023
8		322429	0.125	0.064	0.125	0.008	0.064			FB	0.023
9		322429	0.19	0.094	0.19	0.012	0.064			IL	0.016
10	20/11/13	323823	0.25	0.125	0.25	0.008	0.064			PF	0.023
11		323823	0.19	0.032	0.25	0.008	0.094				
12		323823	0.19	0.094	0.19	0.012	0.047				
Conclusion		Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait				

Lecture a 48h

	Date	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140	Micafungine 1003119010	Date	Lot RPMI	Opérateur	Résultat
1	31/10/13	322429	0.38	0.5	0.25	0.008	0.094					
2	31/10/13	323823	0.5	0.5	0.25	0.008	0.094		05/09/14	416849	FB	0.016
3	31/10/13	322429	0.38	0.5	0.25	0.006	0.125		11/09/14		SV	0.032
4	08/11/13	322429	0.25	0.38	0.125	0.004	0.125				IL	0.016
5	08/11/13	322429	0.38	0.38	0.125	0.004	0.125				PF	0.023
6	08/11/13	322429	0.25	0.25	0.125	0.008	0.125				FB	0.023
7	15/11/13	322429	0.5	0.125	0.19	0.006	0.125				NI	0.016
8	15/11/13	322429	0.25	0.25	0.19	0.006	0.125		19/09/14	41689	SV	0.023
9	15/11/13	322429	0.38	0.25	0.125	0.008	0.125				FB	0.023
10	21/11/13	323823	0.38	0.75	0.25	0.008	0.094				IL	0.016
11	21/11/13	323823	0.38	0.125	0.19	0.008	0.094				PF	0.016
12	21/11/13	323823	0.38	0.19	0.19	0.012	0.094					
Conclusion		Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait				Parfait	

**Conclusion :** La reproductibilité est parfaite pour le *C. albicans*.

## **ATCC *Candida krusei***

### Lecture a 24h

	Date	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
1	30/10/13	322429	0.5	0.25	0.38
2	30/10/13	323823	0.5	0.047	0.38
3	07/11/13	322429	0.38	0.064	0.5
4	07/11/13	322429	0.5	0.064	0.38
5	07/11/13	322429	0.38	0.064	0.38
6	14/11/13	322429	0.19	0.125	0.5
7	14/11/13	322429	0.75	0.25	0.38
8	14/11/13	322429	0.125	0.125	0.5
9	20/11/13	323823	0.25	0.094	0.38
10	20/11/13	323823	0.19	0.094	0.25
11	20/11/13	323823	0.125	0.064	0.38
conclusion		Parfait	Parfait	Parfait	

### Lecture a 48h

	Date	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
3	31/10/13	322429	1.5	0.5	0.75
4	31/10/13	323823	1	0.25	0.5
5	31/10/13	322429	0.75	0.19	0.5
9	08/11/13	322429	1	0.38	0.5
10	08/11/13	322429	0.75	0.38	0.75
11	08/11/13	322429	0.75	0.25	0.75
15	15/11/13	322429	0.75	0.25	1.5
16	15/11/13	322429	0.75	0.38	0.75
17	15/11/13	322429	1	0.38	0.75
18	21/11/13	323823	1.5	0.25	0.5
19	21/11/13	323823	0.75	0.19	0.75
20	21/11/13	323823	1.5	0.125	1
conclusion		Parfait	Parfait	Parfait	

**Conclusion :** La reproductibilité est parfaite pour le *C. krusei*.

## ATCC *Candida parapsilosis*

### Lecture à 24h

	Date	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
1	30/10/13	322429	0.25	0.023	0.5	0.023	0.5
2	30/10/13	323823	0.25	0.023	1	0.023	0.5
3	30/10/13	322429	0.125	0.023	0.75	0.023	0.38
4	07/11/13	322429	0.25	0.023	0.5	0.023	0.5
5	07/11/13	322429	0.125	0.064	0.38	0.032	0.5
6	07/11/13	322429	0.25	0.032	0.5	0.016	0.38
7	20/11/13	323823	0.19	0.016	1.5	0.032	0.38
8	20/11/13	323823	0.023	0.023	1	0.032	0.38
conclusion		Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait

### Lecture à 48h

	Date	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
1	31/10/13	322429	0.5	0.094	4	0.047	0.5
2	31/10/13	323823	1	0.094	4	0.032	1.5
3	31/10/13	322429	1.5	0.047	4	0.5	1.5
4	08/11/13	322429	0.38	0.125	0.75	0.032	2
5	08/11/13	322429	0.38	0.064	1.5	0.016	1.5
6	08/11/13	322429	0.5	0.094	1.5	0.032	1.5
7	21/11/13	323823	1	0.047	1.5	0.032	0.5
8	21/11/13	323823	1	0.047	1.5	0.032	0.38
conclusion		Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait	Parfait

**Conclusion :** La reproductibilité est parfaite pour le *C. parapsilosis*.

## Reproductibilité de lecture

Résultats de la réalisation et lecture des antifongigrammes avec souches ATCC par plusieurs personnes différentes le même jour.  
Chaque antifongigramme a été lu par plusieurs personnes. Le but étant de vérifier s'il y a une variation interopérateur.

### Reproductibilité DE LA LECTURE à 24h et 48h

#### C. albicans

##### A 24h

Série ATF	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140	Micafungine 1003119010				
									Série ATF	Date	Lot RPMI	Opérateur (lecteur)	Résultat
1	30/10/13	AB (JG)	322429	0.25	0.064	0.25	0.008	0.094	1	04/09/14	416849	FB (JG)	0.016
	30/10/13	AB(XD)	322429	0.38	0.064	0.25	0.008	0.064				FB (NI)	0.016
	30/10/13	AB (DR)	322429	0.25	0.032	0.19	0.006	0.047				FB (FB)	0.023
	30/10/13	AB (YS)	322429	0.25	0.047	0.25	0.006	0.094				FB (SV)	0.023
	30/10/13	AB(DD)	322429	0.19	0.047	0.19	0.006	0.064				FB (DR)	0.016
	30/10/13	AB (ET)	322429	0.19	0.032	0.19	0.008	0.047				FB (IL)	0.012
2	30/10/13	DR(JG)	323823	0.25	0.19	0.19	0.012	0.094	2	10/09/14		FB (YS)	0.016
	30/10/13	DR(XD)	323823	0.5	0.125	0.25	0.016	0.094				FB (JG)	0.016
	30/10/13	DR(DR)	323823	0.38	0.19	0.25	0.016	0.094				FB (PF)	0.016
	30/10/13	DR(YS)	323823	0.38	0.19	0.25	0.016	0.094				FB (FB)	0.016
	30/10/13	DR(DD)	323823	0.38	0.25	0.25	0.012	0.064				FB (SV)	0.016
	30/10/13	DR (ET)	323823	0.25	0.19	0.25	0.012	0.064				IL (JG)	0.016
3	30/10/13	XD(JG)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.047	3			IL(SV)	0.023
	30/10/13	XD(XD)	322429	0.38	0.094	0.38	0.012	0.064				IL (PF)	0.016
	30/10/13	XD(DR)	322429	0.25	0.064	0.19	0.008	0.094				IL (FB)	0.016
	30/10/13	XD(YS)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.094				NI (JG)	0.012
	30/10/13	XD(DD)	322429	0.25	0.094	0.38	0.008	0.064				NI (PF)	0.012
	30/10/13	XD (ET)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.064				NI (SV)	0.012
4	07/11/13	FB(JG)	322429	0.19	0.064	0.125	0.003	0.064	4		5	NI (FB)	0.012
	07/11/13	FB(XD)	322429	0.064	0.032	0.19	0.012	0.094				PF (JG)	0.012

	07/11/13	FB(DR)	322429	0.25	0.125	0.125	0.004	0.064				PF (SV)	0.016
	07/11/13	FB(FB)	322429	0.25	0.25	0.094	0.012	0.064				PF (PF)	0.016
5	07/11/13	XD(JG)	322429	0.19	0.094	0.125	0.008	0.094	6	18/09/14		PF (FB)	0.012
	07/11/13	XD(XD)	322429	0.19	0.032	0.125	0.008	0.064				SV (JG)	0.016
	07/11/13	XD(DR)	322429	0.25	0.125	0.125	0.004	0.094				SV (PF)	0.016
	07/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.19	0.25	0.016	0.094				SV (SV)	0.016
	14/11/13	PP(JG)	322429	0.25	0.094	0.125	0.006	0.094				SV (FB)	0.016
6	14/11/13	PP(XD)	322429	0.25	0.032	0.19	0.006	0.094	7	18/09/14		SV(NI)	0.023
	14/11/13	PP(SV)	322429	0.19	0.094	0.19	0.006	0.094				SV(FB)	0.023
	14/11/13	SV(JG)	322429	0.125	0.064	0.125	0.008	0.064				SV(IL)	0.023
7	14/11/13	SV(XD)	322429	0.125	0.047	0.19	0.008	0.125	8	18/09/14		SV(SV)	0.023
	14/11/13	SV(SV)	322429	0.19	0.064	0.25	0.012	0.125				SV(YS)	0.023
	14/11/13	XD(JG)	322429	0.19	0.094	0.19	0.012	0.064				FB(NI)	0.023
8	14/11/13	XD(XD)	322429	0.19	0.047	0.25	0.016	0.032	9	18/09/14		FB(FB)	0.023
	14/11/13	XD(SV)	322429	0.25	0.125	0.25	0.012	0.064				FB(IL)	0.023
												FB(SV)	0.023
									10	18/09/14		FB(YS)	0.023
												IL(NI)	0.016
												IL(FB)	0.016
												IL(IL)	0.016
												IL(SV)	0.016
												IL(YS)	0.023
												PF(NI)	0.016
												PF(FB)	0.023
												PF(IL)	0.016
												PF(SV)	0.016
												PF(YS)	0.023

## A 48h

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140	Micafungine 1003119010				
									Série ATF	Date	Lot RPMI	Opérateur (lecteur)	Résultat
1	31/10/13	AB (JG)	322429	0.38	0.5	0.25	0.008	0.094	1	05/09/14	416849	FB (JG)	0.016
	31/10/13	AB(XD)	322429	0.38	0.38	0.38	0.008	0.094				FB (NI)	0.023
	31/10/13	AB(DR)	322429	0.25	0.5	0.19	0.008	0.064				FB (FB)	0.016
	31/10/13	AB(YS)	322429	0.38	0.5	0.38	0.008	0.125				FB (SV)	0.016
	31/10/13	AB(DD)	322429	0.38	0.38	0.25	0.008	0.094				FB (DR)	0.016

	31/10/13	AB(NI)	322429	0.38	0.5	0.19	0.008	0.125				FB (IL)	0.016
2	31/10/13	DR(JG)	323823	0.5	0.5	0.25	0.008	0.094	2	11/09/14		FB (JG)	0.023
	31/10/13	DR(XD)	323823	0.75	0.5	0.25	0.008	0.125				FB (NI)	0.023
	31/10/13	DR(DR)	323823	0.5	0.5	0.25	0.006	0.125				FB (FB)	0.023
	31/10/13	DR(YS)	323823	0.5	0.5	0.25	0.008	0.125				FB (SV)	0.032
	31/10/13	DR(DD)	323823	0.5	0.38	0.25	0.008	0.094				FB (IL)	0.023
	31/10/13	DR(NI)	323823	0.75	0.5	0.25	0.008	0.125				NI (SV)	0.032
3	31/10/13	XD(JG)	322429	0.38	0.5	0.25	0.006	0.125	3			NI (FB)	0.023
	31/10/13	XD(XD)	322429	0.38	0.38	0.25	0.006	0.125				NI (NI)	0.016
	31/10/13	XD(DR)	322429	0.5	0.5	0.25	0.004	0.125				NI (JG)	0.016
	31/10/13	XD(YS)	322429	0.38	0.75	0.25	0.008	0.125				NI (IL)	0.016
	31/10/13	XD(DD)	322429	0.5	0.5	0.25	0.008	0.125				SV (SV)	0.032
	31/10/13	XD(ET)	322429	0.38	0.38	0.25	0.008	0.094				SV (FB)	0.023
4	08/11/13	FB(JG)	322429	0.25	0.38	0.19	0.003	0.094	4			SV (NI)	0.023
	08/11/13	FB(XD)	322429	0.25	0.38	0.125	0.003	0.094				SV (JG)	0.023
	08/11/13	FB(DR)	322429	0.25	0.5	0.125	0.003	0.064				SV (IL)	0.016
	08/11/13	FB(FB)	322429	0.25	0.38	0.125	0.004	0.125				IL (SV)	0.032
5	08/11/13	XD(JG)	322429	0.25	0.25	0.125	0.008	0.125	5			IL (FB)	0.023
	08/11/13	XD(XD)	322429	0.38	0.19	0.19	0.008	0.125				IL (NI)	0.023
	08/11/13	XD(DR)	322429	0.25	0.38	0.125	0.016	0.125				IL (JG)	0.023
	08/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.19	0.125	0.008	0.125				IL (IL)	0.023
6	15/11/13	PP(XD)	322429	0.5	0.125	0.19	0.006	0.125	6			PF (SV)	0.023
	15/11/13	PP(SV)	322429	0.38	0.19	0.19	0.004	0.19				PF (FB)	0.023
7	15/11/13	SV(JG)	322429	0.25	0.25	0.19	0.006	0.125				PF (NI)	0.016
	15/11/13	SV(XD)	322429	0.25	0.125	0.19	0.006	0.19				PF (JG)	0.023
	15/11/13	SV(SV)	322429	0.25	0.19	0.19	0.006	0.125				PF (IL)	0.016
8	15/11/13	XD(JG)	322429	0.38	0.25	0.125	0.008	0.125	7	19/09/14	416849	IL(NI)	0.016
	15/11/13	XD(XD)	322429	0.38	0.19	0.125	0.006	0.125				IL(SV)	0.016
	15/11/13	XD(SV)	322429	0.25	0.38	0.25	0.016	0.125				IL(PF)	0.016
									8			IL(IL)	0.016
												FB(NI)	0.023
												FB(SV)	0.023
												FB(PF)	0.023
												FB(IL)	0.023
												SV(NI)	0.023
												SV(SV)	0.023
												SV(PF)	0.023
									9			SV(IL)	0.023
												PF(NI)	0.023
												PF(SV)	0.023
												PF(PF)	0.016
									10				

												PF(IL)	0.016
--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--------	-------

**Conclusion :** la reproductibilité de lecture est parfaite pour *C. albicans*.

### **C. krusei**

#### **A 24h**

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
1	30/10/13	AB (JG)	322429	0.5	0.25	0.38
	30/10/13	AB(XD)	322429	0.75	0.38	0.75
	30/10/13	AB (DR)	322429	0.25	0.5	0.25
	30/10/13	AB (YS)	322429	0.5	0.125	0.38
	30/10/13	AB(DD)	322429	0.5	0.25	0.38
	30/10/13	AB (ET)	322429	0.25	0.125	0.38
2	30/10/13	DR(JG)	323823	0.5	0.047	0.38
	30/10/13	DR(XD)	323823	0.5	0.047	0.38
	30/10/13	DR(DR)	323823	0.5	0.032	0.25
	30/10/13	DR(YS)	323823	0.5	0.047	0.5
	30/10/13	DR(DD)	323823	0.5	0.064	0.38
	30/10/13	DR (ET)	323823	0.5	0.064	0.38
3	07/11/13	FB(JG)	322429	0.25	0.094	0.38
	07/11/13	FB(XD)	322429	0.25	0.094	0.38
	07/11/13	FB(DR)	322429	0.38	0.064	0.5
	07/11/13	FB(FB)	322429	0.38	0.064	0.38
4	07/11/13	DR(JG)	322429	0.38	0.094	0.38
	07/11/13	DR(XD)	322429	0.38	0.064	0.5
	07/11/13	DR(DR)	322429	0.5	0.064	0.38
	07/11/13	DR(FB)	322429	0.38	0.094	0.38

5	07/11/13	XD(JG)	322429	0.38	0.064	0.38
	07/11/13	XD(XD)	322429	0.38	0.094	0.38
	07/11/13	XD(DR)	322429	0.25	0.047	0.38
	07/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.064	0.38
6	14/11/13	PP(JG)	322429	0.125	0.125	0.38
	14/11/13	PP(XD)	322429	0.19	0.064	0.5
	14/11/13	PP(SV)	322429	0.19	0.125	0.5
7	14/11/13	SV (JG)	322429	0.38	0.064	0.38
	14/11/13	SV(XD)	322429	0.75	0.064	0.25
	14/11/13	SV(SV)	322429	0.75	0.25	0.38
8	14/11/13	XD(JG)	322429	0.125	0.125	0.5
	14/11/13	XD (XD)	322429	0.125	0.094	0.5
	14/11/13	XD(SV)	322429	0.125	0.125	0.5

#### A 48h

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
1	31/10/13	AB (JG)	322429	1	0.38	0.75
	31/10/13	AB(XD)	322429	1.5	0.5	0.75
	31/10/13	AB(DR)	322429	1	0.75	1
	31/10/13	AB(YS)	322429	1	0.38	0.75
	31/10/13	AB(DD)	322429	0.75	0.125	0.75
	31/10/13	AB(NI)	322429	1	0.75	0.75
2	31/10/13	DR(JG)	323823	1	0.19	0.5
	31/10/13	DR(XD)	323823	1	0.19	0.5
	31/10/13	DR(DR)	323823	1	0.25	0.5
	31/10/13	DR(YS)	323823	1	0.19	0.5
	31/10/13	DR(DD)	323823	0.75	0.25	0.75

	31/10/13	DR(NI)	323823	1	0.19	0.75
3	08/11/13	FB(JG)	322429	1	0.38	0.5
	08/11/13	FB(XD)	322429	1.5	0.38	0.75
	08/11/13	FB(DR)	322429	1	0.25	0.5
	08/11/13	FB(FB)	322429	1	0.38	0.5
4	08/11/13	DR(JG)	322429	0.75	0.38	0.75
	08/11/13	DR(XD)	322429	0.75	0.5	0.75
	08/11/13	DR(DR)	322429	0.75	0.19	1
	08/11/13	DR(FB)	322429	0.75	0.25	0.75
5	08/11/13	XD(JG)	322429	0.75	0.25	0.75
	08/11/13	XD(XD)	322429	1	0.25	0.75
	08/11/13	XD(DR)	322429	1	0.25	0.75
	08/11/13	XD(FB)	322429	1	0.25	0.5
6	15/11/13	PP (JG)	322429	0.75	0.19	1.5
	15/11/13	PP(XD)	322429	0.75	0.25	2
	15/11/13	PP(SV)	322429	1	0.19	2
7	15/11/13	SV(JG)	322429	0.75	0.25	0.75
	15/11/13	SV(XD)	322429	0.75	0.38	0.75
	15/11/13	SV(SV)	322429	0.75	0.38	0.75
8	15/11/13	XD(JG)	322429	1	0.38	0.75
	15/11/13	XD(XD)	322429	0.75	0.38	0.75
	15/11/13	XD(SV)	322429	1	0.25	1

**Conclusion :** la reproductibilité de lecture est parfaite pour *C. krusei*

### **C. parapsilosis**

#### **A 24 h**

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
1	30/10/13	AB (JG)	322429	0.125	0.016	1	0.023	0.38
	30/10/13	AB(XD)	322429	0.25	0.023	0.5	0.023	0.5
	30/10/13	AB (DR)	322429	0.125	0.032	1	0.032	0.38
	30/10/13	AB (YS)	322429	0.094	0.032	0.75	0.023	0.25
	30/10/13	AB(DD)	322429	0.125	0.016	0.75	0.023	0.38
	30/10/13	AB (ET)	322429	0.125	0.016	0.75	0.023	0.38

2	30/10/13	DR(JG)	323823	0.25	0.023	1	0.023	0.5
	30/10/13	DR(XD)	323823	0.125	0.032	1	0.023	0.75
	30/10/13	DR(DR)	323823	0.094	0.032	1	0.016	0.5
	30/10/13	DR(YS)	323823	0.125	0.047	0.75	0.012	0.5
	30/10/13	DR(DD)	323823	0.125	0.023	0.75	0.023	0.5
	30/10/13	DR (ET)	323823	0.25	0.023	1	0.016	0.5
3	30/10/13	XD(JG)	322429	0.125	0.012	0.75	0.023	0.38
	30/10/13	XD(XD)	322429	0.125	0.016	0.5	0.023	0.5
	30/10/13	XD(DR)	322429	0.125	0.023	0.75	0.023	0.38
	30/10/13	XD(YS)	322429	0.125	0.016	0.5	0.012	0.5
	30/10/13	XD(DD)	322429	0.125	0.016	0.75	0.016	0.5
	30/10/13	XD (ET)	322429	0.125	0.012	0.75	0.016	0.38
4	07/11/13	FB(JG)	322429	0.25	0.023	0.5	0.023	0.5
	07/11/13	FB(XD)	322429	0.19	0.012	0.5	0.032	0.5
	07/11/13	FB(DR)	322429	0.25	0.023	0.38	0.023	0.25
	07/11/13	FB(FB)	322429	0.19	0.047	0.38	0.032	0.5
5	07/11/13	DR(JG)	322429	0.125	0.023	0.75	0.023	0.38
	07/11/13	DR(XD)	322429	0.023	0.75	0.016	0.016	0.016
	07/11/13	DR(DR)	322429	0.19	0.016	0.5	0.016	0.25
	07/11/13	DR(FB)	322429	0.125	0.064	0.38	0.032	0.5
6	07/11/13	XD(JG)	322429	0.25	0.032	0.5	0.016	0.38
	07/11/13	XD(XD)	322429	0.19	0.016	0.5	0.016	0.38
	07/11/13	XD(DR)	322429	0.19	0.008	1	0.032	0.5
	07/11/13	XD(FB)	322429	0.19	0.016	0.5	0.032	0.5

#### A 48h

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
1	31/10/13	AB (JG)	322429	0.38	0.064	4	0.047	0.75
	31/10/13	AB(XD)	322429	0.38	0.094	3	0.125	0.5
	31/10/13	AB(DR)	322429	0.5	0.094	4	0.047	0.5
	31/10/13	AB(YS)	322429	0.5	0.125	4	0.094	0.75
	31/10/13	AB(DD)	322429	2	0.094	6	0.047	0.75

2	31/10/13	DR(JG)	323823	3	0.125	8	0.032	1.5
	31/10/13	DR(XD)	323823	1.5	0.064	8	0.032	1
	31/10/13	DR(DR)	323823	2	0.094	8	0.032	1
	31/10/13	DR(YS)	323823	1	0.094	4	0.032	1.5
	31/10/13	DR(DD)	323823	3	0.064	4	0.064	1
3	31/10/13	XD(JG)	322429	2	0.047	4	0.19	1
	31/10/13	XD(XD)	322429	2	0.047	4	1	1.5
	31/10/13	XD(DR)	322429	2	0.047	4	0.25	1
	31/10/13	XD(YS)	322429	1.5	0.047	4	0.5	1.5
	31/10/13	XD(DD)	322429	2	0.047	4	0.19	1.5
4	08/11/13	FB(JG)	322429	0.38	0.125	0.75	0.032	2
	08/11/13	FB(XD)	322429	0.75	0.094	0.75	0.032	2
	08/11/13	FB(DR)	322429	0.75	0.064	0.5	0.023	2
	08/11/13	FB(FB)	322429	0.5	0.094	0.5	0.023	2
5	08/11/13	DR(JG)	322429	0.38	0.047	3	0.032	1
	08/11/13	DR(XD)	322429	0.38	0.047	1.5	0.032	1
	08/11/13	DR(DR)	322429	0.38	0.064	1.5	0.016	1.5
	08/11/13	DR(FB)	322429	0.38	0.064	1	0.016	1
6	08/11/13	XD(JG)	322429	0.5	0.064	4	0.032	1
	08/11/13	XD(XD)	322429	0.5	0.094	1.5	0.032	1.5
	08/11/13	XD(DR)	322429	0.38	0.094	4	0.032	1
	08/11/13	XD(FB)	322429	0.5	0.094	1	0.032	1

**Conclusion :** la reproductibilité de lecture est parfaite pour *C. parapsilosis*

#### **CONCLUSION :**

Variabilité inter-opérateurs acceptables pour la lecture des CMI des antifongiques à 24h et 48h quelque soit la souche ATCC étudiée.  
Les valeurs en jaune correspondent à la lecture de l'étudiant BTS et n'ont pas été prises en compte.

Les valeurs en rouge sont celles du personnel du laboratoire et restent acceptables (dans les valeurs attendues par le fournisseur).

**Valeurs obtenues comparées aux valeurs attendues**

**C. albicans**

**A 24h**

Série ATF	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Casprofungine 1002184140	Micafungine 1003119010				
									0.004-0.032	Série ATF	Date	Lot RPMI	Opérateur (lecteur)
1	30/10/13	AB (JG)	322429	0.25	0.064	0.25	0.008	0.094	1	04/09/14	416849	FB (JG)	0.016
	30/10/13	AB(XD)	322429	0.38	0.064	0.25	0.008	0.064				FB (NI)	0.016
	30/10/13	AB (DR)	322429	0.25	0.032	0.19	0.006	0.047				FB (FB)	0.023
	30/10/13	AB (YS)	322429	0.25	0.047	0.25	0.006	0.094				FB (SV)	0.023
	30/10/13	AB(DD)	322429	0.19	0.047	0.19	0.006	0.064				FB (DR)	0.016
	30/10/13	AB (ET)	322429	0.19	0.032	0.19	0.008	0.047				FB (IL)	0.012
												FB (YS)	0.016
2	30/10/13	DR(JG)	323823	0.25	0.19	0.19	0.012	0.094	2	10/09/14		FB (JG)	0.016
	30/10/13	DR(XD)	323823	0.5	0.125	0.25	0.016	0.094				FB (PF)	0.016
	30/10/13	DR(DR)	323823	0.38	0.19	0.25	0.016	0.094				FB (FB)	0.016
	30/10/13	DR(YS)	323823	0.38	0.19	0.25	0.016	0.094				FB (SV)	0.016
	30/10/13	DR(DD)	323823	0.38	0.25	0.25	0.012	0.064				IL (JG)	0.016
	30/10/13	DR (ET)	323823	0.25	0.19	0.25	0.012	0.064				IL (SV)	0.023
3	30/10/13	XD(JG)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.047	3	10/09/14		IL (PF)	0.016
	30/10/13	XD(XD)	322429	0.38	0.094	0.38	0.012	0.064				IL (FB)	0.016
	30/10/13	XD(DR)	322429	0.25	0.064	0.19	0.008	0.094				NI (JG)	0.012
	30/10/13	XD(YS)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.094				NI (PF)	0.012
	30/10/13	XD(DD)	322429	0.25	0.094	0.38	0.008	0.064				NI (SV)	0.012
	30/10/13	XD (ET)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.064				NI (FB)	0.012
4	07/11/13	FB(JG)	322429	0.19	0.064	0.125	0.003	0.064	5	10/09/14		PF (JG)	0.012
	07/11/13	FB(XD)	322429	0.064	0.032	0.19	0.012	0.094				PF (SV)	0.016
	07/11/13	FB(DR)	322429	0.25	0.125	0.125	0.004	0.064				PF (PF)	0.016
	07/11/13	FB(FB)	322429	0.25	0.25	0.094	0.012	0.064				PF (FB)	0.012
5	07/11/13	XD(JG)	322429	0.19	0.094	0.125	0.008	0.094	6	10/09/14		SV (JG)	0.016
	07/11/13	XD(XD)	322429	0.19	0.032	0.125	0.008	0.064				SV (PF)	0.016
	07/11/13	XD(DR)	322429	0.25	0.125	0.125	0.004	0.094				SV (SV)	0.016
	07/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.19	0.25	0.016	0.094				SV (FB)	0.016
6	14/11/13	PP(JG)	322429	0.25	0.094	0.125	0.006	0.094	7	18/09/14		SV(NI)	0.023
	14/11/13	PP(XD)	322429	0.25	0.032	0.19	0.006	0.094				SV(FB)	0.023
	14/11/13	PP(SV)	322429	0.19	0.094	0.19	0.006	0.094					

7	14/11/13	SV(JG)	322429	0.125	0.064	0.125	0.008	0.064				SV(IL)	0.023
	14/11/13	SV(XD)	322429	0.125	0.047	0.19	0.008	0.125				SV(SV)	0.023
	14/11/13	SV(SV)	322429	0.19	0.064	0.25	0.012	0.125				SV(YS)	0.023
8	14/11/13	XD(JG)	322429	0.19	0.094	0.19	0.012	0.064	8			FB(NI)	0.023
	14/11/13	XD(XD)	322429	0.19	0.047	0.25	0.016	0.032				FB(FB)	0.023
	14/11/13	XD(SV)	322429	0.25	0.125	0.25	0.012	0.064				FB(IL)	0.023
												FB(SV)	0.023
												FB(YS)	0.023
												IL(NI)	0.016
									9			IL(FB)	0.016
												IL(IL)	0.016
												IL(SV)	0.016
												IL(YS)	0.023
												PF(NI)	0.016
									10			PF(FB)	0.023
												PF(IL)	0.016
												PF(SV)	0.016
												PF(YS)	0.023

#### A 48h

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140	Micafungine 1003119010					
									Série ATF	Date	Lot RPMI	Opérateur (lecteur)	Résultat	
1	31/10/13	AB (JG)	322429	0.38	0.5	0.25	0.008	0.094	1	05/09/14	416849	FB (JG)	0.016	
	31/10/13	AB(XD)	322429	0.38	0.38	0.38	0.008	0.094				FB (NI)	0.023	
	31/10/13	AB(DR)	322429	0.25	0.5	0.19	0.008	0.064				FB (FB)	0.016	
	31/10/13	AB(YS)	322429	0.38	0.5	0.38	0.008	0.125				FB (SV)	0.016	
	31/10/13	AB(DD)	322429	0.38	0.38	0.25	0.008	0.094				FB (DR)	0.016	
	31/10/13	AB(NI)	322429	0.38	0.5	0.19	0.008	0.125				FB (IL)	0.016	
2	31/10/13	DR(JG)	323823	0.5	0.5	0.25	0.008	0.094	2	11/09/14		FB (JG)	0.023	
	31/10/13	DR(XD)	323823	0.75	0.5	0.25	0.008	0.125				FB (NI)	0.023	
	31/10/13	DR(DR)	323823	0.5	0.5	0.25	0.006	0.125				FB (FB)	0.023	
	31/10/13	DR(YS)	323823	0.5	0.5	0.25	0.008	0.125				FB (SV)	0.032	
	31/10/13	DR(DD)	323823	0.5	0.38	0.25	0.008	0.094				FB (IL)	0.023	

	31/10/13	DR(NI)	323823	0.75	0.5	0.25	0.008	0.125	3				NI (SV)	0.032
3	31/10/13	XD(JG)	322429	0.38	0.5	0.25	0.006	0.125	4	5	6	7	NI (FB)	0.023
	31/10/13	XD(XD)	322429	0.38	0.38	0.25	0.006	0.125					NI (NI)	0.016
	31/10/13	XD(DR)	322429	0.5	0.5	0.25	0.004	0.125					NI (JG)	0.016
	31/10/13	XD(YS)	322429	0.38	0.75	0.25	0.008	0.125					NI (IL)	0.016
	31/10/13	XD(DD)	322429	0.5	0.5	0.25	0.008	0.125					SV (SV)	0.032
	31/10/13	XD(ET)	322429	0.38	0.38	0.25	0.008	0.094					SV (FB)	0.023
4	08/11/13	FB(JG)	322429	0.25	0.38	0.19	0.003	0.094	5	6	7	8	SV (NI)	0.023
	08/11/13	FB(XD)	322429	0.25	0.38	0.125	0.003	0.094					SV (JG)	0.023
	08/11/13	FB(DR)	322429	0.25	0.5	0.125	0.003	0.064					SV (IL)	0.016
	08/11/13	FB(FB)	322429	0.25	0.38	0.125	0.004	0.125					IL (SV)	0.032
5	08/11/13	XD(JG)	322429	0.25	0.25	0.125	0.008	0.125	5	6	7	8	IL (FB)	0.023
	08/11/13	XD(XD)	322429	0.38	0.19	0.19	0.008	0.125					IL (NI)	0.023
	08/11/13	XD(DR)	322429	0.25	0.38	0.125	0.016	0.125					IL (JG)	0.023
	08/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.19	0.125	0.008	0.125					IL (IL)	0.023
6	15/11/13	PP(XD)	322429	0.5	0.125	0.19	0.006	0.125	5	6	7	8	PF (SV)	0.023
	15/11/13	PP(SV)	322429	0.38	0.19	0.19	0.004	0.19					PF (FB)	0.023
7	15/11/13	SV(JG)	322429	0.25	0.25	0.19	0.006	0.125	5	6	7	8	PF (NI)	0.016
	15/11/13	SV(XD)	322429	0.25	0.125	0.19	0.006	0.19					PF (JG)	0.023
	15/11/13	SV(SV)	322429	0.25	0.19	0.19	0.006	0.125					PF (IL)	0.016
8	15/11/13	XD(JG)	322429	0.38	0.25	0.125	0.008	0.125	5	6	7	8	IL(NI)	0.016
	15/11/13	XD(XD)	322429	0.38	0.19	0.125	0.006	0.125					IL(SV)	0.016
	15/11/13	XD(SV)	322429	0.25	0.38	0.25	0.016	0.125					IL(PF)	0.016
									9	10	10	10	IL(IL)	0.016
													FB(NI)	0.023
													FB(SV)	0.023
									9	10	10	10	FB(PF)	0.023
													FB(IL)	0.023
													SV(NI)	0.023
									9	10	10	10	SV(SV)	0.023
													SV(PF)	0.023
													SV(IL)	0.023
									9	10	10	10	PF(NI)	0.023
													PF(SV)	0.023
													PF(PF)	0.016
									9	10	10	10	PF(IL)	0.016

Conclusion : Les valeurs obtenues sont toutes dans la fourchette attendue sauf pour la 5 Fluorocytosine.

Nous pensons que nos valeurs sont acceptables car d'après P.Rieu et al. JMM 2009, il obtient des valeurs comprises entre 0.012 et 2 pour Candida albicans à 48h en Etest.

Ces données issues d'une étude française correspondent à nos données. Par ailleurs, nos valeurs ne changent pas l'interprétation finale de la sensibilité de la souche.

### **C. krusei**

#### **A 24h**

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
				0.125-1	0.125-0.5	-
1	30/10/13	AB (JG)	322429	0.5	0.25	0.38
	30/10/13	AB(XD)	322429	0.75	0.38	0.75
	30/10/13	AB (DR)	322429	0.25	0.5	0.25
	30/10/13	AB (YS)	322429	0.5	0.125	0.38
	30/10/13	AB(DD)	322429	0.5	0.25	0.38
	30/10/13	AB (ET)	322429	0.25	0.125	0.38
2	30/10/13	DR(JG)	323823	0.5	0.047	0.38
	30/10/13	DR(XD)	323823	0.5	0.047	0.38
	30/10/13	DR(DR)	323823	0.5	0.032	0.25
	30/10/13	DR(YS)	323823	0.5	0.047	0.5
	30/10/13	DR(DD)	323823	0.5	0.064	0.38
	30/10/13	DR (ET)	323823	0.5	0.064	0.38
3	07/11/13	FB(JG)	322429	0.25	0.094	0.38
	07/11/13	FB(XD)	322429	0.25	0.094	0.38
	07/11/13	FB(DR)	322429	0.38	0.064	0.5

	07/11/13	FB(FB)	322429	0.38	0.064	0.38
4	07/11/13	DR(JG)	322429	0.38	0.094	0.38
	07/11/13	DR(XD)	322429	0.38	0.064	0.5
	07/11/13	DR(DR)	322429	0.5	0.064	0.38
	07/11/13	DR(FB)	322429	0.38	0.094	0.38
5	07/11/13	XD(JG)	322429	0.38	0.064	0.38
	07/11/13	XD(XD)	322429	0.38	0.094	0.38
	07/11/13	XD(DR)	322429	0.25	0.047	0.38
	07/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.064	0.38
6	14/11/13	PP(JG)	322429	0.125	0.125	0.38
	14/11/13	PP(XD)	322429	0.19	0.064	0.5
	14/11/13	PP(SV)	322429	0.19	0.125	0.5
7	14/11/13	SV (JG)	322429	0.38	0.064	0.38
	14/11/13	SV(XD)	322429	0.75	0.064	0.25
	14/11/13	SV(SV)	322429	0.75	0.25	0.38
8	14/11/13	XD(JG)	322429	0.125	0.125	0.5
	14/11/13	XD (XD)	322429	0.125	0.094	0.5
	14/11/13	XD(SV)	322429	0.125	0.125	0.5

#### A 48h

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B	Voriconazole	Caspofungine
				1002171230	1002125580	1002184140
1	31/10/13	AB (JG)	322429	1	0.38	0.75
	31/10/13	AB(XD)	322429	1.5	0.5	0.75
	31/10/13	AB(DR)	322429	1	0.75	1
	31/10/13	AB(YS)	322429	1	0.38	0.75
	31/10/13	AB(DD)	322429	0.75	0.125	0.75
	31/10/13	AB(NI)	322429	1	0.75	0.75

2	31/10/13	DR(JG)	323823	1	0.19	0.5
	31/10/13	DR(XD)	323823	1	0.19	0.5
	31/10/13	DR(DR)	323823	1	0.25	0.5
	31/10/13	DR(YS)	323823	1	0.19	0.5
	31/10/13	DR(DD)	323823	0.75	0.25	0.75
	31/10/13	DR(NI)	323823	1	0.19	0.75
3	08/11/13	FB(JG)	322429	1	0.38	0.5
	08/11/13	FB(XD)	322429	1.5	0.38	0.75
	08/11/13	FB(DR)	322429	1	0.25	0.5
	08/11/13	FB(FB)	322429	1	0.38	0.5
4	08/11/13	DR(JG)	322429	0.75	0.38	0.75
	08/11/13	DR(XD)	322429	0.75	0.5	0.75
	08/11/13	DR(DR)	322429	0.75	0.19	1
	08/11/13	DR(FB)	322429	0.75	0.25	0.75
5	08/11/13	XD(JG)	322429	0.75	0.25	0.75
	08/11/13	XD(XD)	322429	1	0.25	0.75
	08/11/13	XD(DR)	322429	1	0.25	0.75
	08/11/13	XD(FB)	322429	1	0.25	0.5
6	15/11/13	PP (JG)	322429	0.75	0.19	1.5
	15/11/13	PP(XD)	322429	0.75	0.25	2
	15/11/13	PP(SV)	322429	1	0.19	2
7	15/11/13	SV(JG)	322429	0.75	0.25	0.75
	15/11/13	SV(XD)	322429	0.75	0.38	0.75
	15/11/13	SV(SV)	322429	0.75	0.38	0.75
8	15/11/13	XD(JG)	322429	1	0.38	0.75
	15/11/13	XD(XD)	322429	0.75	0.38	0.75
	15/11/13	XD(SV)	322429	1	0.25	1

### Conclusion :

Les valeurs obtenues sont toutes dans la fourchette attendue sauf pour le voriconazole et une série sur huit pour la caspofungine.

Nous pensons que nos valeurs sont acceptables car pour la caspofungine, il s'agit d'un problème d'ensemencement ponctuel qui sera revu lors de l'habilitation du technicien.

Concernant le voriconazole, certaines valeurs sont trop basses avec uniquement une graduation d'écart ce qui n'impacte pas l'interprétation des résultats.

**C. parapsilosis**

**A 24 h**

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
				0.064-0.5	0.064-0.25	1-4	0.008-0.064	-
1	30/10/13	AB (JG)	322429	0.125	0.016	1	0.023	0.38
	30/10/13	AB(XD)	322429	0.25	0.023	0.5	0.023	0.5
	30/10/13	AB (DR)	322429	0.125	0.032	1	0.032	0.38
	30/10/13	AB (YS)	322429	0.094	0.032	0.75	0.023	0.25
	30/10/13	AB(DD)	322429	0.125	0.016	0.75	0.023	0.38
	30/10/13	AB (ET)	322429	0.125	0.016	0.75	0.023	0.38
2	30/10/13	DR(JG)	323823	0.25	0.023	1	0.023	0.5
	30/10/13	DR(XD)	323823	0.125	0.032	1	0.023	0.75
	30/10/13	DR(DR)	323823	0.094	0.032	1	0.016	0.5
	30/10/13	DR(YS)	323823	0.125	0.047	0.75	0.012	0.5
	30/10/13	DR(DD)	323823	0.125	0.023	0.75	0.023	0.5
	30/10/13	DR (ET)	323823	0.25	0.023	1	0.016	0.5
3	30/10/13	XD(JG)	322429	0.125	0.012	0.75	0.023	0.38
	30/10/13	XD(XD)	322429	0.125	0.016	0.5	0.023	0.5
	30/10/13	XD(DR)	322429	0.125	0.023	0.75	0.023	0.38
	30/10/13	XD(YS)	322429	0.125	0.016	0.5	0.012	0.5
	30/10/13	XD(DD)	322429	0.125	0.016	0.75	0.016	0.5
	30/10/13	XD (ET)	322429	0.125	0.012	0.75	0.016	0.38
4	07/11/13	FB(JG)	322429	0.25	0.023	0.5	0.023	0.5
	07/11/13	FB(XD)	322429	0.19	0.012	0.5	0.032	0.5
	07/11/13	FB(DR)	322429	0.25	0.023	0.38	0.023	0.25
	07/11/13	FB(FB)	322429	0.19	0.047	0.38	0.032	0.5
5	07/11/13	DR(JG)	322429	0.125	0.023	0.75	0.023	0.38
	07/11/13	DR(XD)	322429	0.023	0.75	0.016	0.016	0.016
	07/11/13	DR(DR)	322429	0.19	0.016	0.5	0.016	0.25

	07/11/13	DR(FB)	322429	0.125	0.064	0.38	0.032	0.5
6	07/11/13	XD(JG)	322429	0.25	0.032	0.5	0.016	0.38
	07/11/13	XD(XD)	322429	0.19	0.016	0.5	0.016	0.38
	07/11/13	XD(DR)	322429	0.19	0.008	1	0.032	0.5
	07/11/13	XD(FB)	322429	0.19	0.016	0.5	0.032	0.5

#### A 48h

	Date	Opérateur (lecteur)	N°Lot RPMI	Ampho B 1002171230	Fluorocytosine 1002109290	Fluconazole 1001892240	Voriconazole 1002125580	Caspofungine 1002184140
				0.25-1	0.064-0.25	1-8	0.016- 0.064	0.25-2
1	31/10/13	AB (JG)	322429	0.38	0.064	4	0.047	0.75
	31/10/13	AB(XD)	322429	0.38	0.094	3	0.125	0.5
	31/10/13	AB(DR)	322429	0.5	0.094	4	0.047	0.5
	31/10/13	AB(YS)	322429	0.5	0.125	4	0.094	0.75
	31/10/13	AB(DD)	322429	2	0.094	6	0.047	0.75
2	31/10/13	DR(JG)	323823	3	0.125	8	0.032	1.5
	31/10/13	DR(XD)	323823	1.5	0.064	8	0.032	1
	31/10/13	DR(DR)	323823	2	0.094	8	0.032	1
	31/10/13	DR(YS)	323823	1	0.094	4	0.032	1.5
	31/10/13	DR(DD)	323823	3	0.064	4	0.064	1
3	31/10/13	XD(JG)	322429	2	0.047	4	0.19	1
	31/10/13	XD(XD)	322429	2	0.047	4	1	1.5
	31/10/13	XD(DR)	322429	2	0.047	4	0.25	1
	31/10/13	XD(YS)	322429	1.5	0.047	4	0.5	1.5
	31/10/13	XD(DD)	322429	2	0.047	4	0.19	1.5
4	08/11/13	FB(JG)	322429	0.38	0.125	0.75	0.032	2
	08/11/13	FB(XD)	322429	0.75	0.094	0.75	0.032	2
	08/11/13	FB(DR)	322429	0.75	0.064	0.5	0.023	2
	08/11/13	FB(FB)	322429	0.5	0.094	0.5	0.023	2
5	08/11/13	DR(JG)	322429	0.38	0.047	3	0.032	1

	08/11/13	DR(XD)	322429	0.38	0.047	1.5	0.032	1
	08/11/13	DR(DR)	322429	0.38	0.064	1.5	0.016	1.5
	08/11/13	DR(FB)	322429	0.38	0.064	1	0.016	1
6	08/11/13	XD(JG)	322429	0.5	0.064	4	0.032	1
	08/11/13	XD(XD)	322429	0.5	0.094	1.5	0.032	1.5
	08/11/13	XD(DR)	322429	0.38	0.094	4	0.032	1
	08/11/13	XD(FB)	322429	0.5	0.094	1	0.032	1

**Conclusion :**

Plusieurs valeurs sont en dehors des limites acceptables pour *Candida parapsilosis* notamment la série 3 réalisée par le stagiaire.

Nous constatons que les valeurs de l'amphotéricine B sont trop élevées à 48h.

Pour la 5 Fluorocytosine, les valeurs sont une graduation en dessous des valeurs attendues, ce qui ne change pas l'interprétation et reste acceptable.

Pour le Fluconazole et le voriconazole, les valeurs sont acceptables sauf pour une série sur six liée probablement à l'opérateur.

**Validation du milieu d'isolement de la souche à tester (hors recommandations fournisseur):**

Le fournisseur recommande d'utiliser un inoculum après isolement sur milieu Sabouraud Chloramphénicol Gentamicine (SCG) 24h.

Le laboratoire, dans certaines circonstances, peut être amené à réaliser l'antifongigramme sur des souches de levures isolées à partir d'un milieu chromogène.

Le but est de prouver que l'isolement de la souche à tester sur milieu chromogène 48h n'a pas d'impact sur les résultats des CMI antifongiques. Le laboratoire a réalisé la comparaison des CMI antifongiques à partir de souches de patients repiquées sur deux milieux de culture différents : SCG (incubation de 24h) et ChromAgar (incubation de 48h).

**Résultats de la comparaison de souches préincubées sur SCG 24h et sur Chromagar 48h**



**0 graduation d'écart**

**1 graduation d'écart**

**2 graduations d'écart**

### **Conclusion :**

Nous concluons à une bonne concordance des CMI quelque soit le milieu de préincubation utilisé pour l'inoculum.

Dans les cas où une à deux graduations d'écart étaient observées, les résultats de CMI n'avaient aucune influence sur l'interprétation de l'antifongigramme.

Ces tests nous ont permis de valider la détermination de CMI antifongiques à partir d'un inoculum ensemencé sur le milieu chromogène pendant 48h.

### **Comparaison de méthodes :**

Non applicable.  
Cf bibliographie

### **Contamination:**

Non applicable  
Chaque souche est testée à partir d'un isolement sur milieu chromogène (ChromAgar).

### **Stabilité:**

Cf données fournisseurs et bibliographies

## **Numeros de lot milieux et réactifs utilisés pour la validation de méthode**

	AmphoB		5FC	
	référence	lot	référence	lot
févr-12	526308 (2012)	BK1203		BK0178
oct-13				
nov-13	526300 (2013)	1002160670	510900	1001497680
sept-14	526308 (2014)	1002195300 (2014)		1002090410

	Fluconazole		Voriconazole	
	référence	lot	référence	lot
févr-12		BK1178	févr-12	
oct-13	510808		oct-13	
nov-13		1001310200	nov-13	
sept-14	412350	1002763890	sept-14	412490
				1003099390

	Caspofungine		Mycafungine	
	référence	lot	référence	lot
févr-12		BK1296	févr-12	535708
oct-13	532400		oct-13	BJ0953
nov-13		1002039930	nov-13	BJ3494
sept-14	412269	1002916220	sept-14	1002776470

	RPMI	
	référence	lot
févr-12		133524
oct-13	AEB122182	
nov-13		403423
sept-14		416849

	SCG			Chromagar			NaCl	
	référence	lot		référence	lot		référence	lot
févr-12	56594	2H2438	févr-12	257480	2298006	févr-12	20040	1000458500
oct-13		3F2192	oct-13		3218486	oct-13		1001957860
nov-13		4D2455	nov-13		3246147/ 3281415	nov-13		1003189010
sept-14		4D2455	sept-14		4178247	sept-14		

## Liste matériel utilisé

Pièce	Matériel	Code labo	N°inventaire
Réserve 1	Réfrigérateur	RR3	113224
Réserve 1	Réfrigérateur	RR4	EP10.2 XXXX
Réserve 1	Congélateur -35	RC1	502981 T
Réserve 1	Congélateur -35	RC2	116619
Réserve 1	Congélateur -35	RC4	XXXX
Réserve 1	congélateur -80	RC3	76094
Réserve 1	Etuve	Bactec	XXXX
Divers	Réfrigérateur	DiR1	113225
Divers	Réfrigérateur	DiR2	26844
Myco	Réfrigérateur	MR1	26843
Myco	Etuve	ME1	76865
Myco	Etuve	ME2	3586
Myco	Hotte	MH1	79584
Myco	Microscope	M10	78450

Mycobiologie	Microscope	M13	8595
Mycobiologie	Imprimante		5005468
Mycobiologie	Densitometre		84184
Dermato	Hotte	DH1	72153
Dermato	Hotte	DH2	16117
Dermato	Microscope	M6	80581
Dermato	Microscope	M7	80586
Dermato	Microscope	M9	79569
Dermato	Loupe		3550
Laverie	Réfrigérateur	LaR1	971171 T
Parasitologie	Centrifugeuse	PCent1	33760
Parasitologie	Centrifugeuse	PCent2	3570
Parasitologie	Microscope	M2	80584
Parasitologie	Microscope	M4	75393
Parasitologie	Microscope	M14	75394
Parasitologie	Microscope	M3	79570
Parasitologie	Microscope	M5	3552
Parasitologie	Imprimante		5013188
Couloir / Séro	Réfrigérateur	SR1	971172 T
Couloir	etuve	CE4	76864
Couloir	etuve	CE5	3587
Couloir	etuve	CE7	3588
Couloir	etuve	CE8	34249

### Liste matériel critique

EP-SA-PA-METRO-MAT-DE-002

## **BIBLIOGRAPHIE**

- Caspofungin Etest susceptibility testing of *Candida* species: risk of misclassification of susceptible isolates of *C. glabrata* and *C. krusei* when adopting the revised CLSI caspofungin breakpoints.  
[Arendrup MC<sup>1</sup>](#), [Pfaller MA](#); [Danish Fungaemia Study Group](#).
- Methods for in vitro antifungal susceptibility testing  
[Dannaoui E.](#)
- Sensibilité comparée par CLSI, EUCAST, E-test et ATB Fungus 2 des souches de *Candida* sp. isolées au cours d'une enquête épidémiologique sur les candidémies dans des hôpitaux non universitaires  
[P.Rieu et al.](#)  
JMM 2009
- QUAMIC 2014
- Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *candida* spp of the EUCAST and four commercial techniques  
M.Cuenca-Estrella et al  
CMI 2005 ;11 :486-492
- In vitro susceptibility of *Candida* species to five antifungal agents in a German University hospital assessed by the reference both microdilution method and Etest  
Ralf F. et al  
JAC 2007 59:767-771

## **CONCLUSION**

**Les tests de performance de la méthode Etest, pour la détermination des CMI d'antifongiques in vitro, sont conformes aux exigences selon les recommandations du fournisseur. Un écart de deux graduations est toléré pour la lecture des CMI sans que cela n'affecte l'interprétation des résultats.**

**Au vu de nos résultats et de l'absence de recommandations du fournisseur pour un rendu des CMI à 24 ou 48h, nous avons décidé de rendre les valeurs de CMI de l'amphotéricine B et des échinocandines à 24h ; les valeurs de CMI des azolés et de la 5 Fluoro cytosine à 48h.**

**Des tests complémentaires ont été nécessaires pour vérifier la validité de la méthode hors recommandations fournisseurs (milieu d'isolement de la souche) ou lorsqu'aucune précision n'était donnée dans la notice (délai de lecture).**

**Ce test est apte à être utilisé au laboratoire.**