

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

Analyte/Mesurande :	Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des antifongiques en milieu gélosé
Principe de la Mesure :	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.
Méthode de mesure :	Lecture visuelle
Type d'échantillon primaire (urine, sang, ...) :	Souche fongique
Prétraitement de l'échantillon (centrifugation, dilution, ...) :	suspension en solution saline à 0.85% de NaCl
Unités :	$\mu\text{g/ml}$
Intervalles de référence¹ :	Cf. chapitre performances de la méthode (valeurs cibles/souche ATCC testée et /antifongique)

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

Marquage CE (Oui/Non) :	Oui														
Codage C.N.Q. (s'il existe) :	NA														
Référence du réactif (référence fournisseur, version notice) :	<p>Milieu RPMI précoulés en boîte Référence AEB122182</p> <p>Souches ATCC</p> <p><i>Candida albicans</i> ATCC 90028™ <i>Candida krusei</i> ATCC 6258™ <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019™</p> <p>Bandelettes E-test Biomérieux :</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>NaCl 0.85% Référence 20040</p> <p>Eau purifiée stérile 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/-														

MISE EN ŒUVRE	
Opérateur(s) habilité(s) ayant réalisé la vérification de méthode :	Techniciens de Parasitologie Mycologie Stagiaire BTS : Xavier De Almeida Biologiste : J.Guitard
Procédure de vérification initiale: EP-SA-PA-MYCO-ANA-PG-001	<p><u>1-Objet du document</u> La détermination de la CMI antifongique par la méthode Etest est une technique permettant de tester la sensibilité des champignons in vitro en milieu gélosé. 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><u>2-Déroulement des tests de performance</u> (résultats en annexe) 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><u>3- CONCLUSION :</u> Cf. annexe</p>
Procédure de gestion de la portée flexible :	EP-HUEP-QUAL-SMQ-PG-007
Période d'évaluation :	2013
Date de mise en service :	2004
Autorisation de mise en service par :	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
Type d'échantillon primaire : 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
Prétraitement de l'échantillon	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	
Main d'œuvre (habilitation du personnel) : Préciser les références des procédures et enregistrements.	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
Conditions ambiantes requises (ex : Température, organisation des locaux, éclairage,...) :	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
Matériau 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		
	Densitomètre	Maintenance densitomètre et fiche de contrôle mensuel	1

* 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 : amphotéricine 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	Résultat
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 anti-infectieux 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			
1	31/10/13	322429	0.38	0.5	0.25	0.008	0.094	Date	Lot RPMI	Opérateur	Résultat
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
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

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

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

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

Reproductibilite 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
3	30/10/13	DR (ET)	323823	0.25	0.19	0.25	0.012	0.064	3			IL (JG)	0.016
	30/10/13	XD(JG)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.047				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	4			NI (JG)	0.012
	30/10/13	XD(DD)	322429	0.25	0.094	0.38	0.008	0.064				NI (PF)	0.012
4	07/11/13	XD(ET)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.064	4			NI (SV)	0.012
	07/11/13	FB(JG)	322429	0.19	0.064	0.125	0.003	0.064				NI (FB)	0.012
	07/11/13	FB(XD)	322429	0.064	0.032	0.19	0.012	0.094				5	PF (JG)

5	07/11/13	FB(DR)	322429	0.25	0.125	0.125	0.004	0.064	6	18/09/14		PF (SV)	0.016
	07/11/13	FB(FB)	322429	0.25	0.25	0.094	0.012	0.064				PF (PF)	0.016
	07/11/13	XD(JG)	322429	0.19	0.094	0.125	0.008	0.094				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
6	14/11/13	PP(JG)	322429	0.25	0.094	0.125	0.006	0.094	7	18/09/14		SV (FB)	0.016
	14/11/13	PP(XD)	322429	0.25	0.032	0.19	0.006	0.094				SV (NI)	0.023
7	14/11/13	PP(SV)	322429	0.19	0.094	0.19	0.006	0.094	8	18/09/14		SV (FB)	0.023
	14/11/13	SV(JG)	322429	0.125	0.064	0.125	0.008	0.064				SV (IL)	0.023
8	14/11/13	SV(XD)	322429	0.125	0.047	0.19	0.008	0.125	9	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
9	14/11/13	XD(XD)	322429	0.19	0.047	0.25	0.016	0.032	10	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
												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	3				NI (SV)	0.032
3	31/10/13	XD(JG)	322429	0.38	0.5	0.25	0.006	0.125					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	4				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					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	5				IL (SV)	0.032
5	08/11/13	XD(JG)	322429	0.25	0.25	0.125	0.008	0.125					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
													IL(IL)	0.016
									8				FB(NI)	0.023
													FB(SV)	0.023
													FB(PF)	0.023
													FB(IL)	0.023
									9				SV(NI)	0.023
													SV(SV)	0.023
													SV(PF)	0.023
													SV(IL)	0.023
									10				PF(NI)	0.023
													PF(SV)	0.023
													PF(PF)	0.016

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

3	31/10/13	DR(NI)	323823	1	0.19	0.75
	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
4	08/11/13	FB(FB)	322429	1	0.38	0.5
	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
5	08/11/13	DR(FB)	322429	0.75	0.25	0.75
	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
6	08/11/13	XD(FB)	322429	1	0.25	0.5
	15/11/13	PP (JG)	322429	0.75	0.19	1.5
	15/11/13	PP(XD)	322429	0.75	0.25	2
7	15/11/13	PP(SV)	322429	1	0.19	2
	15/11/13	SV(JG)	322429	0.75	0.25	0.75
	15/11/13	SV(XD)	322429	0.75	0.38	0.75
8	15/11/13	SV(SV)	322429	0.75	0.38	0.75
	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	Caspofungine 1002184140	Micafungine 1003119010	Série ATF	Date	Lot RPMI	Opérateur (lecteur)	Résultat
				0.064-0.5	0.125-1	0.125-05	0.002-0.016	-	0.004- 0.032					
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
3	30/10/13	DR (ET)	323823	0.25	0.19	0.25	0.012	0.064	3			IL (JG)	0.016	
	30/10/13	XD(JG)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.047					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
4	07/11/13	XD (ET)	322429	0.25	0.094	0.25	0.008	0.064	4			NI (SV)	0.012	
	07/11/13	FB(JG)	322429	0.19	0.064	0.125	0.003	0.064					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
5	07/11/13	FB(FB)	322429	0.25	0.25	0.094	0.012	0.064	5			PF (PF)	0.016	
	07/11/13	XD(JG)	322429	0.19	0.094	0.125	0.008	0.094					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
6	07/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.19	0.25	0.016	0.094	6			SV (SV)	0.016	
	14/11/13	PP(JG)	322429	0.25	0.094	0.125	0.006	0.094					SV (FB)	0.016
	14/11/13	PP(XD)	322429	0.25	0.032	0.19	0.006	0.094					SV(NI)	0.023
	14/11/13	PP(SV)	322429	0.19	0.094	0.19	0.006	0.094					SV(FB)	0.023

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
									9			IL(NI)	0.016
								IL(FB)				0.016	
								IL(IL)				0.016	
									10			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				
				0.125-0.5	0.5-2	0.125-0.5	0.004-0.016	0.064-0.25	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

3	31/10/13	DR(NI)	323823	0.75	0.5	0.25	0.008	0.125	3	19/09/14	416849	NI (SV)	0.032
	31/10/13	XD(JG)	322429	0.38	0.5	0.25	0.006	0.125				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
4	31/10/13	XD(ET)	322429	0.38	0.38	0.25	0.008	0.094	4	19/09/14	416849	SV (FB)	0.023
	08/11/13	FB(JG)	322429	0.25	0.38	0.19	0.003	0.094				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
5	08/11/13	FB(FB)	322429	0.25	0.38	0.125	0.004	0.125	5	19/09/14	416849	IL (SV)	0.032
	08/11/13	XD(JG)	322429	0.25	0.25	0.125	0.008	0.125				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
6	08/11/13	XD(FB)	322429	0.25	0.19	0.125	0.008	0.125	6	19/09/14	416849	IL (IL)	0.023
	15/11/13	PP(XD)	322429	0.5	0.125	0.19	0.006	0.125				PF (SV)	0.023
7	15/11/13	PP(SV)	322429	0.38	0.19	0.19	0.004	0.19	7	19/09/14	416849	PF (FB)	0.023
	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	8	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
									9	19/09/14	416849	IL (IL)	0.016
												FB (NI)	0.023
												FB (SV)	0.023
									10	19/09/14	416849	FB (PF)	0.023
												FB (IL)	0.023
												SV (NI)	0.023
									10	19/09/14	416849	SV (SV)	0.023
												SV (PF)	0.023
												SV (IL)	0.023
												PF (NI)	0.023
									10	19/09/14	416849	PF (SV)	0.023
												PF (PF)	0.016
												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
				0.5-2	0.25-1	0.25-1
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

	N° SGL	N° Mycothèque	Milieu	Espèce isolée	amphoB	Fluco	itra	Vori	posa	Caspo	5FC
1	35699	myc2231	SC	C albicans	0,25	0,125	0,047	0,012	0,016	0,064	0,125
			CHR		0,19	0,125	0,032	0,008	0,023	0,032	0,125
2	46137	myc2229	SC	C. glabrata	0,5	>256	>32	>32	>32	0,125	0,008
			CHR		0,38	>256	>32	>32	>32	0,094	0,016
3	47644	myc2230	SC	C albicans	0,19	0,125	0,064	0,002	0,016	0,064	0,023
			CHR		0,125	0,125	0,032	0,004	0,023	0,047	0,023
4	42799	myc2226	SC	C albicans	0,19	0,25	0,047	0,008	0,023	0,023	0,016
			CHR		0,125	0,25	0,047	0,008	0,016	0,016	0,023
5	33229	myc2224	SC	C albicans	0,25	0,25	0,064	0,006	0,016	0,19	0,023
			CHR		0,19	0,19	0,064	0,006	0,012	0,125	0,032
6	22438	myc2221	SC	C krusei	0,38	48	1	0,125	0,094	0,25	>32
			CHR		0,38	48	1	0,19	0,125	0,25	>32
7	24126	myc2218	SC	C albicans	0,064	0,25	0,032	0,006	0,012	0,016	0,047
			CHR		0,064	0,25	0,032	0,006	0,012	0,016	0,032
8	85962	myc2216	SC	C lusitaniae	0,19	0,25	0,125	0,006	0,003	0,19	0,004
			CHR		0,19	0,25	0,125	0,006	0,003	0,19	0,006
9	11808	myc2214	SC	C albicans	0,25	0,094	0,125	0,003	0,016	0,032	0,023
			CHR		0,125	0,125	0,094	0,004	0,023	0,032	0,016
10	94728	myc2213	SC	C lusitaniae	0,38	2	0,38	0,012	0,023	0,19	>32
			CHR		0,38	2	0,38	0,012	0,023	0,19	>32
11	3261	myc2207	SC	C krusei	1,5	12	1	0,094	0,047	0,19	>32
			CHR		1,5	12	1	0,094	0,047	0,25	>32
12	3558	myc2206	SC	C albicans	0,125	0,064	0,125	0,002	0,016	0,032	0,023
			CHR		0,125	0,064	0,125	0,002	0,016	0,047	0,023
13	9683	myc2203	SC	C albicans	0,094	0,064	0,064	<0,002	0,023	0,016	0,032
			CHR		0,094	0,064	0,047	<0,002	0,012	0,032	0,032
14	9727	myc2204	SC	C kefir	0,19	0,064	0,032	0,003	0,016	0,023	4
			chr		0,125	0,047	0,032	0,003	0,016	0,023	4
15	90681	myc2199	SC	C glabrata	1	96	>32	0,75	>32	0,125	0,032
			CHR		1	96	>32	0,75	>32	0,094	0,023
16	95696	myc2202	SC	C tropicalis	0,5	0,25	0,047	0,016	0,016	0,064	0,023
			CHR		0,38	0,25	0,032	0,023	0,016	0,032	0,032
17	97505	myc2205	SC	C glabrata	0,5	48	>32	3	>32	0,064	0,023
			CHR		0,5	32	>32	2	>32	0,064	0,016
18	75194	MYC2194	SC	C glabrata	2	16	>32	0,75	>32	0,125	0,032
			CHR		2	12	>32	1	>32	0,125	0,032
19	80789	myc2195	SC	C glabrata	0,5	256	>32	32	>32	0,094	0,023
			CHR		0,5	256	>32	32	>32	0,094	0,016
20	68628	myc2193	SC	C albicans	0,125	0,125	0,047	<0,002	0,012	0,023	0,016
			CHR		0,094	0,19	0,032	<0,002	0,012	0,016	0,012

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	510900	BK0178
oct-13	526300 (2013)	1002160670		1001497680
nov-13				
sept-14	526308 (2014)	1002195300 (2014)		1002090410

	Fluconazole			Voriconazole	
	référence	lot		référence	lot
févr-12	510808	BK1178	févr-12	532808	1000412400
oct-13		1001310200	oct-13		1002116700
nov-13			nov-13		
sept-14	412350	1002763890	sept-14	412490	1003099390

	Caspofungine			Mycafungine	
	référence	lot		référence	lot
févr-12	532400	BK1296	févr-12	535708	BJ0953
oct-13		1002039930	oct-13	535700	BJ3494
nov-13			nov-13		
sept-14	412269	1002916220	sept-14		1002776470

	RPMI	
	référence	lot
févr-12	AEB122182	133524
oct-13		403423
nov-13		
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			nov-13		3246147/ 3281415	nov-13		
sept-14			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

Myco	Microscope	M13	8595
Myco	Imprimante		5005468
Myco	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 MC¹](#), [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.