

## Antibiogramme fongique

### DOMAINE D'APPLICATION

L'Antibiogramme fongique permet la **détermination de la sensibilité des champignons levuriformes, filamenteux et sporulés aux Antifongiques** en utilisant la **méthode de diffusion en milieu gélosé**, c'est-à-dire :

- Des **milieux solides répartis en boîtes de Petri** (rondes ou carrées)
- Des **disques imprégnés** des différents agents antifongiques correspondant aux spécialités pharmaceutiques mises à la disposition de la Clinique.

### PRESENTATION

#### Milieux :

voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)

**Disques imprégnés** d'antifongiques cartouches unitaires de 30 disques

- 5 fluorocytosine 10 µg (Ancotil)<sup>®</sup> **code 356-2871**
- 5 fluorocytosine 1 µg (Ancotil)<sup>®</sup> **code 356-2841**
- Nystatine (Mycostatine)<sup>®</sup> 100 **code 356-2851**
- Amphotéricine B 100 µg (Fungizone)<sup>®</sup> **code 356-2801**
- Econazole 50 µg (Pévaryl)<sup>®</sup> **code 356-2821**
- Clotrimazole 50 µg (Canesten, Trimysten)<sup>®</sup> **code 356-2811**
- Miconazole 50 µg (Daktarin)<sup>®</sup> **code 356-2831**
- Kétoconazole 50 µg (Nizoral)<sup>®</sup> **code 356-2861**

### INTERPRETATION

Antifongiques	Ø de la zone d'inhibition en mm	C.M.I. en µg/ml	Interprétation (a-b) pour les levures
5 fluorocytosine* (1 µg)	≥20 20-10 ≤ 10	≤ 1.56 1.56-25 ≥ 25	Sensible Intermédiaire Résistant
Amphotéricine B	> 10 ≤ 10	≤ 1 ≥ 1	Sensible Intermédiaire ou résistant
Nystatine	> 10 ≤ 10		Sensible Résistant
Imidazoles** (Econazole, Clotrimazole, Miconazole, Ketoconazole)	≤ 20 20-10 ≤ 10	≤ 1.56 1.56-25 ≥ 25	Sensible Intermédiaire Résistant
5 fluorocytosine 1 µg	> 10 ≤ 10	> 10 ≤ 10	Pour <i>A. fumigatus</i> Sensible Intermédiaire ou Résistant
5 fluorocytosine 10 µg	> 10 ≤ 10	> 10 ≤ 10	Sensible ou Intermédiaire Résistant

Pour les souches considérées résistantes (de la zone d'inhibition < 10 mm), il est conseillé de déterminer la C.M.I. ou d'adresser la souche de référence des Mycoses et Antifongiques :

Pr DROUHET, Institut Pasteur,  
25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris.

\* Les colonies retrouvées dans la zone d'inhibition de la 5-fluorocytosine appartiennent à des souches résistantes.

\*\* Pour les dérivés d'imidazole, l'évaluation est parfois difficile. Certaines souches présentent deux zones d'inhibition :

- Une grande zone,
- Une zone plus réduite avec de petites colonies qui n'apparaissent pas résistantes lorsqu'on évalue à nouveau leur sensibilité : la croissance de ces petites colonies est observée également lors de la détermination des C.M.I.

# Antibiogramme fongique

a) Résultats obtenus avec *Candida albicans* et autres champignons levuriformes

b) Souches sensibles, intermédiaires ou résistantes par rapport aux taux sériques obtenus avec les posologies usuelles par voie orale ou intraveineuse.

Le volume du milieu à répartir est de 15 ml\*, correspondant à :

- |                                 |   |
|---------------------------------|---|
| • 1 boîte ronde<br>de ø 90 mm   | } Epaisseur<br>de la gélose :<br>2,4 mm |
| • 3 boîtes rondes<br>de ø 50 mm |   |

Les boîtes remplies de gélose doivent être séchées 30 minutes à 37°C avant utilisation

\* volume contenu dans une présentation  
= 1 tube

## Inoculum

### Pour *Candida* et *Torulopsis*

Une anse calibrée, chargée d'une colonie de levures de 24 heures est homogénéisée dans 10 ml d'eau distillée, afin d'obtenir une suspension d'environ 10<sup>6</sup> levures par ml.

Une dilution au 1/10 de cette suspension (1 ml, soit 20 gouttes d'une pipette Pasteur de suspension dans 9 ml d'eau distillée stérile), soit 10<sup>5</sup> levures par ml, sert d'inoculum.

### Pour *Cryptococcus neoformans*

L'inoculum est réalisé avec une anse calibrée, chargée d'une culture de 48 heures pour 10 ml d'eau distillée, soit 10<sup>6</sup> levures par ml.

### Pour *Aspergillus fumigatus*

L'inoculum est réalisé avec une anse de culture sporulée d'environ 5 jours pour 10 ml d'eau distillée.

La culture sporulée est obtenue sur Gélose de Sabouraud + chloramphénicol à 37°C (culture verte).

En raison de l'effet "inoculum" pour certains antifongiques (5FC et imidazoles), le but à atteindre consiste à obtenir des colonies confluentes au moment de la lecture.

## Ensemencement

- Inonder la surface entière de la gélose avec :
  - 5 ml d'inoculum pour la boîte de 90 mm
  - 2 ml pour la boîte de 50 mm
 l'excès éventuel de suspension étant aspiré à la pipette
- Sécher les boîtes 15 minutes à 37°C.

## N.B. :

Bien respecter la relation établie entre milieu et antifongiques selon les indications fournies

en début de texte (milieux utilisés).

## Application des disques

Déposer les disques sur la gélose avec une pince.

## Pré-diffusion et incubation

Afin d'obtenir une pré-diffusion des antifongiques, il est recommandé de laisser les boîtes pendant 30 min à température du laboratoire avant de les placer à l'étuve à 37°C :

- Pendant 24 heures pour *Candida*, *Torulopsis* et *Aspergillus*,
- Pendant 48 heures pour *Cryptococcus neoformans*.

## Lecture et interprétation

Pour chaque antifongique : Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition avec un pied à coulisse ou un compas appliqué le plus près possible de la surface de la gélose.

## CONSERVATION / VALIDITE / LOT

- Milieux : voir Fiche(s) Technique(s) correspondante(s)
- Disques : à + 2 - 8°C et à l'abri de l'humidité
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

## CONTROLE QUALITE

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

## BIBLIOGRAPHIE

- **REGLI P., FERRARI H., GOUDARD M., BUFFARD Y. (1982)** : Intérêt du milieu Casitone pour l'étude de la sensibilité, *in vitro*, des champignons levuriformes aux antifongiques dérivés de l'imidazole. Bulletin de la Société Française de Mycologie Médicale, **11** : 359-362.
- **DROUHET E. et col. (1981)** : Standardisation de l'antibiogramme antifongique. Rapport du groupe d'étude de la Société Française de Mycologie Médicale, Bulletin de la société Française de Mycologie Médicale, **10** : 131-134.
- **DROUHET E., DUPONT B. (1978)** : Antibiogramme des champignons aux antifongiques.

2/3

# Antibiogramme fongique

Bulletin de la Société Française de Mycologie Médicale, **2** : 165-170.

• **DROUHET E., DUPONT B. (1976)** : Traitements antifongiques. Encyclopédie médico-chirurgicale, **9** : maladies infectieuses, 8004<sup>10</sup>.