

Diagnostiquer *Candida auris*: méthodes, difficultés, laboratoires de référence



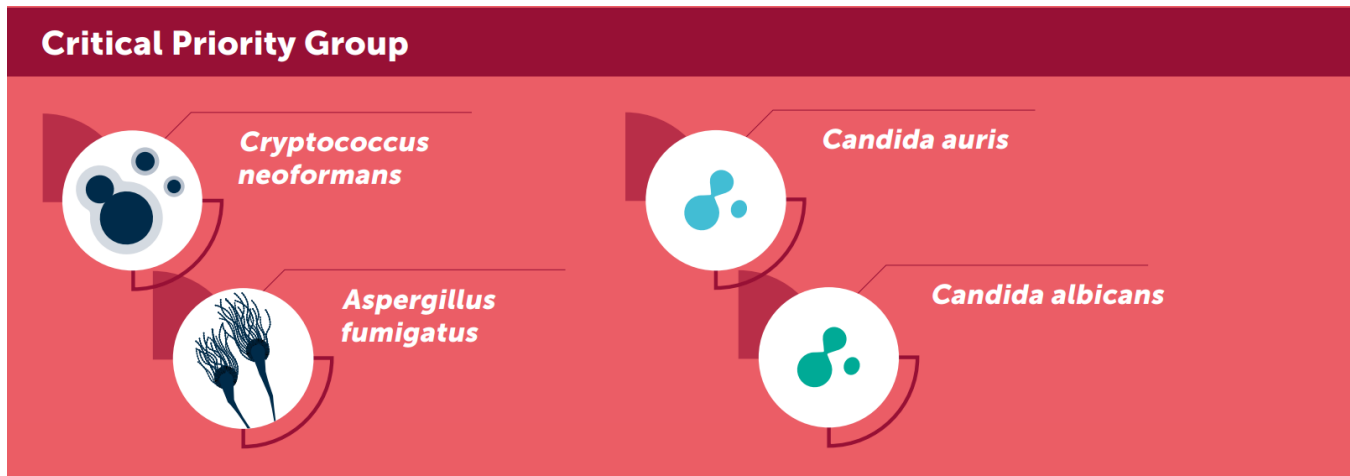
Photo Dimitri Ceglar

Dr Marjorie CORNU

MCU-PH - Service de Parasitologie Mycologie

CHU de Lille

WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action (25/10/22)



Face à *C. auris*, vous n'êtes pas seuls !

Renseignez-vous auprès des microbiologistes de votre structure

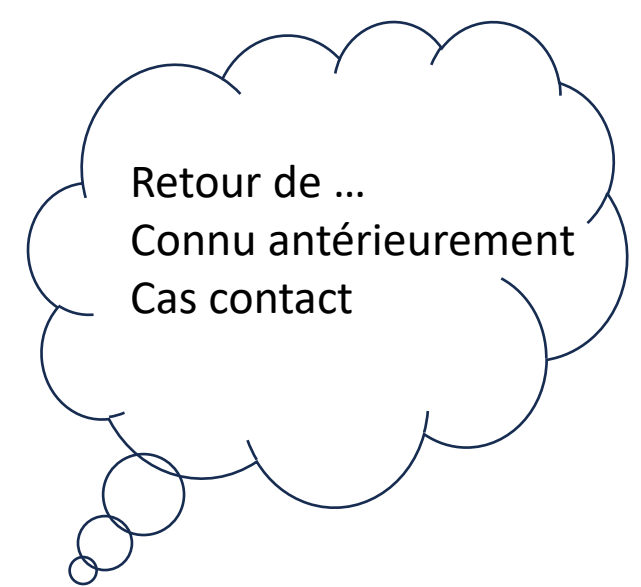
Quel est leur niveau d'information à propos de *C. auris* ?

De quelles méthodes diagnostiques disposent-ils ?

Que sont-ils capables de mettre en place ?

Quels prélèvements ?

Pour quelle indication ?



Dépistage (selon recommandations nationales, épidémiologie)

1 seul « e-swab » pour les 2 sites axillaires et les 2 sites inguinaux (Se 61,9%)

± 1 écouvillon nasal (↑Se 79,7%)

Proctor *et al.* Nat Med. 2021

=> Recommandations APHP

Diagnostic

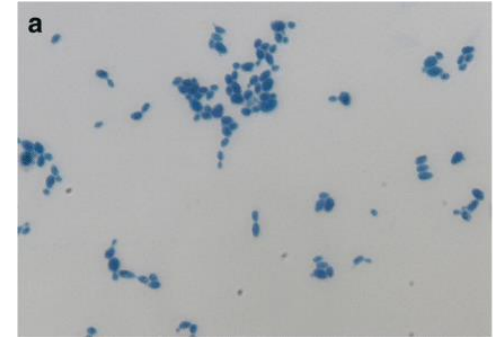
Tout prélèvement permettant de faire un diagnostic d'infection (hémoculture,...)

Quelles analyses ? Mycologie conventionnelle

A quoi ressemble *C. auris* microscopiquement ? A beaucoup d'autres *Candida*....

Blastoconidies ovoïdes à allongées, 2,5 - 5 µm,

Forment rarement - et sous conditions de stress - des pseudohyphes, jamais de tube germinatif



Quindos *et al.* Int Microbiol. 2018

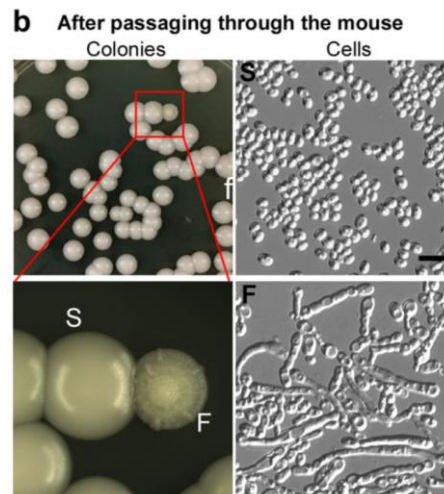
Culture

Milieux chromogènes Levures

Aspects

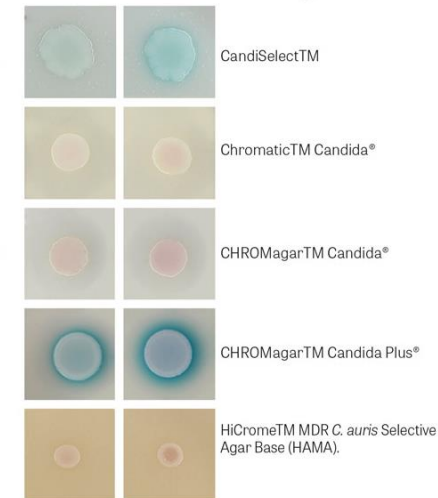
Température 40°C > 35°C (jusque 42°C)

Durée d'incubation jusque 10 jours



Yue *et al.* Emerg Microbes Infect. 2018

		CHROMagar™		
		<i>C. auris</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. troj</i>
Aspect colonies		Bleu clair + Halo bleu	Vert-Bleu	Bleu + Hal
Recto Candida Plus				
		CHROMaga		
Aspect colonies		Rose-Blanche	Vert	Bleu
Recto Candida				



Les milieux ont été incubés 48 heures à 35°C ou à 42°C pour la gélose HA-MA.

Adapté de : de Jong AW, Dieleman C, Carbia M, *et al.* Performance of two novel chromogenic media for the identification of multi-drug-resistant *Candida auris* compared with other commercially available formulations. J Clin Microbiol 2021;59(4):e03220-20.

Tableau Thomas Sohier; Bigot *et al.* Hygiènes. 2023

Difficultés d'identification ?

Identification par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF

Vérifier si *C. auris* est dans la base de données et tester la base

- **Bruker Biotyper** : Bruker FDA-approved MALDI Biotyper CA System library (Version Claim 4) ou “research use only” libraries (Versions 2014 [5627] ou plus récentes)
- **bioMérieux VITEK MS** : FDA-approved IVD v3.2 ou “research use only” libraries (with Saramis Ver 4.14 database and Saccharomycetaceae update)
- Ou une base en ligne implémentée avec des spectres de *C. auris*

Mais aussi Identification par séquençage d'ADN :

D1-D2 region (region 28S) ou Internal Transcribed Region (ITS) (3 jours)

Sur hémocultures

ePlex Blood Culture Identification Fungal Pathogen (BCID-FP) Panel (90 min)

BioFire FilmArray BCID2 (1h)

Difficultés d'identification ?

Identification Method	Organism <i>C. auris</i> can be misidentified as
Vitek 2 YST*	<i>Candida haemulonii</i> <i>Candida duobushaemulonii</i>
API 20C	<i>Rhodotorula glutinis</i> (characteristic red color not present) <i>Candida sake</i>
API ID 32C	<i>Candida intermedia</i> <i>Candida sake</i> <i>Saccharomyces kluyveri</i>
BD Phoenix yeast identification system	<i>Candida haemulonii</i> <i>Candida catenulata</i>
MicroScan	<i>Candida famata</i> <i>Candida guilliermondii</i> ** <i>Candida lusitaniae</i> ** <i>Candida parapsilosis</i> **
RapID Yeast Plus	<i>Candida parapsilosis</i> **

<https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/identification.html>

Quelles analyses ? PCR sur écouvillon

Difficultés d'interprétation ?

Rapidité des résultats

Protocole de PCR du CDC

<https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/pdf/Real-time-PCR-based-Id-C-auris-508.pdf>

Écouvillons e-swab, 4-25°C, extraction dans les 96h

Prélyse mécanique selon A. Alanio St-Louis (pas de PCR isolée selon leur technique, partage de protocole sur demande)

PCR à confirmer en culture

Si culture + : cas certain
Si PCR+/culture - : cas possible → renouveler et élargir les sites de prélèvements
 . si 1 seule PCR+ suivie d'au moins 4 PCR et cultures négatives à une semaine d'intervalle : pas de portage
 . si au moins 2 PCR+ : cas possible. Les mesures de contrôle de la diffusion sont alors à définir avec l'EOH et le service de mycologie/microbiologie.

Tableau I – Kits commerciaux de PCR pour l'identification de *C. auris*, leur technique et performances.

© Hygiènes-XXXI-6-Alanio

Kit	Technique	Prélèvement	Performances	Référence
AurisID* (Olm Diagnostics, Newcastle Upon Tyne, Royaume-Uni)	Avec sondes et amorces (28S ribosomal gene region) Résultats en 45 minutes		Limite de détection: 1 copie par réaction Faux positifs possibles	[21]
Fungiplex* RUO (Bruker, Billerica, MA, États-Unis)	Avec sondes et amorces (<i>mating locus alpha</i> *) Résultats en 2 heures	À partir d'une colonie suspecte en culture et tous types de prélèvements	Limite de détection: 9 copies par réaction Pas de faux positif	[21]
CanAur Monodose dtec-qPCR Test (Genetic PCR Solution, Orihuela, Espagne)	Résultats en 45 minutes		100% de Se et Sp Limite de détection: 1 copie par réaction	[22]
<i>Candida auris</i> kit BD Max™ System (BioGX, Birmingham, AL, États-Unis)	Avec sondes et amorces (ITS 1/2)		100% de Se et Sp	[23]

https://www.pasteur.fr/sites/default/files/note_cauris_juin_2023.pdf

ITS : internal transcribed spacer; RUO : research use only; Se : sensibilité; Sp : spécificité.

Risques et précaution au laboratoire



Risque de contamination inter-échantillon

=> Ensemencement des échantillons de dépistages et de patients suivis en fin de demi-journée

=> Identification à part du reste de la routine

=> Nettoyage approfondi des surfaces si suspicion de *C. auris*

Solution d'hypochlorite de sodium 0,5% ou un sporicide (type Incidin™)



Patients non fléchés
Milieus usuels
(Sabouraud, géloses bactério)

Que doit faire le biologiste ?

Si méthode d'identification non fiable: envoyer rapidement dans un centre en capacité d'identifier

Si identification confirmée

- **Alerter** (l'équipe d'hygiène, les infectiologues)
- **Déclarer** au CNRMA, envoi de la souche
- Réaliser un antifongigramme (ou envoi au CNR)

Absence de BP de sensibilité

Proposition de BP non définitifs du CDC (EUCAST non déterminé)

<https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html>

CLSI : ECOFF aux échinocandines (aout 2022, 0,5 à 1 mg/l pour anidulafungin)

Valeurs des CMI₅₀ / CMI₉₀ (mg/L) pour les antifongiques (Données du CNRMA)

	AMB	5-FC	Fluco	Vori	Posa	Isavu	Caspo	Mica
(n=22)	0.25/0.5	≤0.12/≥64	≥64/≥64	0.25/1	≤0.01/0.12	0.015/0.12	0.03/0.03	0.015/0.03

MYCOLOGIE CONVENTIONNELLE

Nature du prélèvement

Culture/Identification :

Axillaire/inguinal (dépistage *Candida auris*)

Candida auris : rares colonies



(BZE)

Antifongigramme

1. *Candida auris*

Sensititre YeastOne (Thermo Scientific)

	Résultat	CMI en mg/L
<u>Azolés</u>		
Fluconazole	Résistant	64
Voriconazole	Non catégorisable	0.25
Posaconazole	Non catégorisable	0.03
Itraconazole	Non catégorisable	0.12
<u>Echinocandines</u>		
Caspofongine	Sensible	0.25
Micafongine	Sensible	0.12
Anidulafongine	Sensible	0.12
<u>Polyènes</u>		
Amphotéricine B	Résistant	2
<u>Analogues nucléosidiques</u>		
5-Fluorocytosine	Non catégorisable	0.06

Techniques mycologiques utilisées : Cultures sur milieu chromogénique et Sabouraud. Hémocultures sur flacon Mycosis IC/F (Becton Dickinson)

Levures : identification par spectrométrie de masse (Microflex, Bruker)

Champignons filamenteux : identification morphologique (macroscopique et microscopique)

(BZE)

Conclusion

Référentiels d'interprétation : CLSI M27M44S Ed3 Août 2022. Absence de breakpoints (seuils de sensibilité) établis par les comités d'experts pour *Candida auris*. La catégorisation est effectuée, pour les échinocandines, en fonction des valeurs seuils épidémiologiques (ECOFF, CLSI M57S Ed4 Août 2022), et, pour l'amphotéricine B, en fonction d'un breakpoint non validé et proposé par le CDC, interprétation à titre indicatif.

Laboratoires de référence



Réseau SINFONI
CNRMA



Votre interlocuteur :
Dr T. Chouaki

Déclarations
Envoi des souches



Vos interlocuteurs :
Dr M. Cornu
Dr J. Leroy

