

# Contrôle externe de la qualité

## Mycologie

Comité d'assurance qualité en microbiologie  
Laboratoire de santé publique du Québec

Avril 2017

## **AUTEURS**

Maud Vallée, Ph. D.  
Contrôle externe de la qualité  
Laboratoire de santé publique du Québec

Philippe Dufresne, Ph. D.  
Responsable du laboratoire de mycologie médicale  
Laboratoire de santé publique du Québec

## **AVEC LA COLLABORATION**

Les membres du Comité d'assurance qualité en microbiologie (CAQM)

## **MISE EN PAGE**

Kim Bétournay, agente administrative  
Laboratoire de santé publique du Québec

## **REMERCIEMENTS**

Dominique St-Pierre, photographe médical  
Laboratoire de santé publique du Québec

## Informations générales

### Date du contrôle

---

- Envoi : 10 avril 2017
- Fermeture : 23 mai 2017

### Bilan de la participation

---

Laboratoires inscrits au programme de contrôle externe de la qualité en mycologie	41
Laboratoires de biologie médicale du Québec ayant participé au contrôle externe de la qualité en mycologie	34
Laboratoires hors réseau ayant participé au programme de contrôle externe de la qualité en mycologie <sup>1</sup>	4

1. Les résultats fournis par ce laboratoire ne sont pas comptabilisés dans l'évaluation de la performance des laboratoires du réseau de la santé québécois.

### Taux de participation

---

- 100 % de taux de participation des laboratoires de biologie médicale du Québec (34/34).

### Informations déposées sur le portail Web du programme CEQ du LSPQ

---

- Résultats attendus accessibles en ligne : 25 mai 2017
- Rapport final disponible en ligne : 3 novembre 2017

*Il est obligatoire de participer au contrôle externe de la qualité depuis le 10 septembre 2010 selon la circulaire ministérielle 2010 20. Une erreur majeure peut être attribuée aux laboratoires qui ne fournissent pas une raison valable à leur non-participation.*

## Rapport

### Avant-propos

---

Ce rapport présente l'analyse des résultats fournis par l'ensemble des laboratoires qui ont participé au contrôle externe de la qualité en mycologie lors de l'envoi du 10 avril 2017.

Des résultats ont été obtenus pour les 34 laboratoires de biologie médicale du Québec qui devaient participer au contrôle externe de la qualité en mycologie. Le taux de participation s'établit donc à 100 %. Quatre laboratoires hors réseau ont également participé à ce contrôle.

### Objectifs

---

Les objectifs fixés par le Comité d'assurance qualité en microbiologie étaient :

- Évaluer le nombre de laboratoires procédant actuellement à la référence de champignons provenant de cultures de sites superficiels et cutanés à leur centre serveur pour confirmation d'identification;
- Informer les laboratoires de l'émergence à l'international d'infections causées par des souches de *Candida auris* multirésistantes et vérifier si les laboratoires sont en mesure de l'identifier correctement;
- Évaluer si les laboratoires peuvent identifier *Lichtheimia* sp., un agent occasionnel de la mucormycose;
- Évaluer la capacité des laboratoires à identifier *Curvularia* sp., un champignon dématié responsable de sinusites chroniques.

### Échantillons

---

Ce contrôle comprenait quatre spécimens en suspension dans un liquide, envoyés pour mise en culture, identification et détermination de la sensibilité aux antifongiques.

**Tableau 1 Résultats attendus**

Spécimens	Renseignements cliniques	Résultats attendus
20170401	Homme, 30 ans, teigne barbe, aspiration d'un kérion.	<i>Trichophyton verrucosum</i>
20170402	Femme, 65 ans, lymphome, infection disséminée, biopsie pulmonaire.	<i>Lichtheimia</i> sp. ( <i>Absidia</i> sp.)
20170403	Femme, 56 ans, sinusite chronique, sécrétions nasales.	<i>Curvularia</i> sp.
20170404	Homme, 28 ans, de retour de voyage au Pakistan, otite.	<i>Candida auris</i> (à titre éducatif)

## Classification des laboratoires de mycologie

---

Les **laboratoires de catégorie 1** offrent un service de base qui comprend :

- l'examen direct sur demande et la mise en culture;
- l'identification de *Candida albicans* (filamentation). Un rapport de « Levure autre que *Candida albicans* » est produit pour les autres levures avec l'envoi du spécimen pour identification;
- la reconnaissance des dermatophytes, avec ou sans identification au genre ou à l'espèce. Un rapport de « Dermatophyte » est souvent produit avec l'envoi du spécimen pour identification;
- la reconnaissance de champignons filamenteux autres que des dermatophytes, isolés de spécimens dermatologiques ou autres. Un rapport de « Champignon autre que dermatophyte » ou « Champignon » est souvent émis avec l'envoi du spécimen pour identification.

Les **laboratoires de catégorie 2** offrent un service plus complet qui comprend :

- l'examen direct sur demande et la mise en culture;
- l'identification à l'espèce des levures;
- l'identification à l'espèce des dermatophytes;
- l'identification au genre et parfois à l'espèce des autres champignons. Les *Aspergillus* fréquemment isolés de spécimens cliniques devraient être identifiés à l'espèce.

Les **laboratoires arbitres** sont des laboratoires de catégorie 2 d'hôpitaux universitaires et/ou affiliés ayant une expertise reconnue en mycologie.

N.B. : Tous les participants au contrôle externe de la qualité devraient indiquer si, dans la routine, un spécimen ou un isolat est référé ou non à un autre laboratoire pour compléter l'identification.

## Analyse des résultats

---

Un résultat non conforme au « Résultat attendu » (ex. : erreur d'identification au genre ou à l'espèce) est considéré comme une « Erreur » indépendamment du niveau d'expertise du laboratoire. Il est considéré normal qu'un laboratoire de catégorie 1 rapporte fréquemment des résultats d'analyse ou d'identification partiels. Les laboratoires de catégorie 2 devraient normalement rapporter le « Résultat attendu » pour chacun des spécimens soumis, mais l'émission d'un résultat partiel compatible avec le résultat attendu sera considérée comme un « Résultat accepté ». Pour les tests de sensibilité aux antifongiques, toute discordance catégorielle (différence de catégorie S, I ou SDD, R) avec les résultats obtenus au LSPQ est considérée comme une « erreur d'interprétation ».

Le laboratoire arbitre participe au contrôle et agit comme expert pour l'évaluation des spécimens et la validation des résultats soumis. Un consensus de la majorité des pairs permet de valider la qualité des spécimens. Les résultats des laboratoires arbitres sont évalués de façon similaire à ceux des laboratoires de catégorie 2.

Tous les laboratoires qui, dans les situations pertinentes, signalent l'envoi des spécimens partiellement identifiés à un laboratoire de référence se conforment aux bonnes pratiques de laboratoire. Dans certains cas, l'ajout de cette information modulera l'évaluation des résultats.

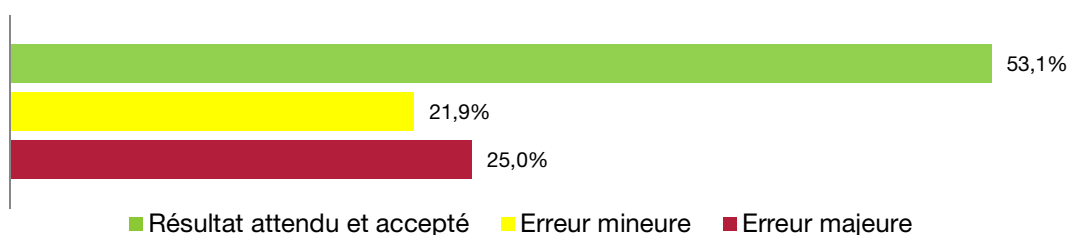
## Sommaire des résultats

**Tableau 2 Spécimen 20170401 : *Trichophyton verrucosum***

Résultats	Laboratoires participants (38)				
	Laboratoires de biologie médicale du Québec (34)			Laboratoires hors réseau (4)	
	Arbitres (3)	2 (22)	1 (9)	2 (1)	1 (3)
<i>Trichophyton verrucosum</i>	2	9 <sup>1</sup>	3 <sup>2</sup>	1	1
<i>Trichophyton</i> sp.	1 <sup>1</sup>	5 <sup>5</sup>	3 <sup>3</sup>		1 <sup>1</sup>
Champignon			1 <sup>1</sup>		
Dermatophyte		1 <sup>1</sup>			1 <sup>1</sup>
<i>Trichophyton tonsurans</i>		1			
<i>Trichophyton schoenleinii</i>		1 <sup>1</sup>			
Complexe <i>Trichophyton mentagrophytes</i>		1 <sup>1</sup>			
Champignon filamenteux hyalin		1 <sup>1</sup>			
<i>Chrysosporium</i> sp.		1			
<i>Neoscytalidium (Scytalidium)</i> sp.		1			
Aucune identification		1			
Analyse non disponible			2 <sup>2</sup>		

Le chiffre en exposant correspond au nombre de laboratoires qui enverraient le spécimen à l'extérieur pour identification et/ou confirmation, parmi ce groupe.

### Performance des laboratoires de biologie médicale du Québec



### Importance clinique, distribution et épidémiologie

*Trichophyton verrucosum* est un dermatophyte zoophile commun qui, au Québec, est principalement associé à la vache laitière. Il peut aussi occasionnellement infecter d'autres espèces animales, incluant les chevaux, les chèvres, les chevreuils, les chiens, et les cochons. Chez l'humain, l'infection est donc surtout de type occupationnel et peut être acquise par un simple contact direct avec des animaux infectés, ou indirectement avec des objets ayant servi à l'entretien de ceux-ci. L'infection par *T. verrucosum* provoque généralement une forte réaction inflammatoire et souvent la formation de kérion. Les lésions se retrouvent principalement à la figure, à la barbe, au cuir chevelu, aux mains

et aux avant-bras. Des éclosions de plusieurs dizaines de cas sont courantes lorsque les travailleurs sont mis en contact avec un troupeau de bovins infectés.

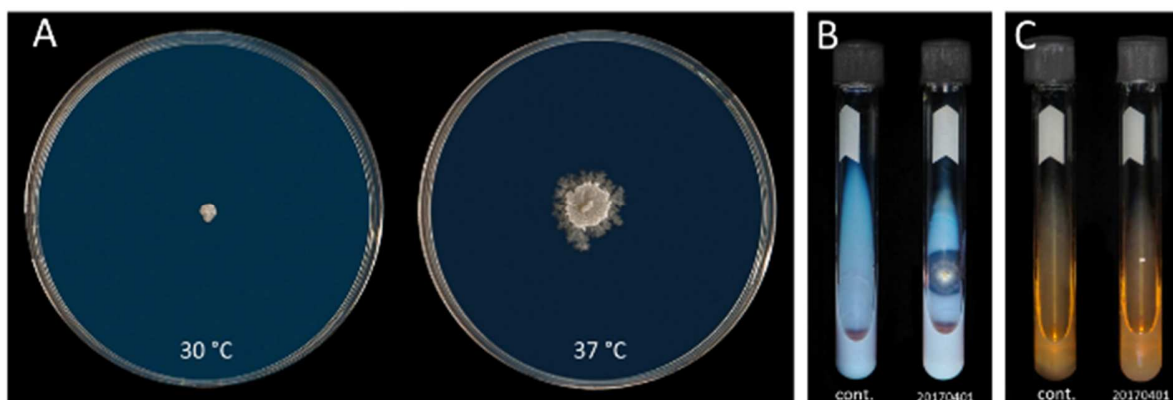
La fréquence d'isolement de ce dermatophyte en laboratoire biomédical est plutôt faible puisque l'infection est limitée aux populations vivant en milieu rural. Cette espèce représente 2-3 % de l'ensemble des dermatophytes reçus au LSPQ.

### Identification de *Trichophyton verrucosum* en laboratoire

Le spécimen 20170401 est une culture pure de *Trichophyton verrucosum* mise en suspension dans de l'eau. Au repiquage sur gélose Sabouraud, PDA ou IMA, on observe de petites colonies de texture glabre à veloutée, à croissance lente (< 1 cm), blanches avec un revers incolore à jaune pâle après une semaine d'incubation à 30 °C (figure 1A). La croissance est plus rapide à 37 °C qu'à 30 °C. La croissance est bonne sur gélose Mycosel. Le pH reste inchangé sur la gélose Bromocresol-Purple (BCP), mais une grande zone d'hydrolyse caractéristique est bien visible (figure 1B). Le test d'uréase (gélose Christensen) est variable selon la souche (figure 1C). La plupart des souches ont une dépendance à la thiamine et l'inositol.

Au microscope, on note la présence de microconidies ovales ou piriformes ou massuées (2-7 µm), généralement peu abondantes, et disposées de chaque côté de l'hyphe, ainsi que la présence de chlamydospores en chaîne (figure 2). Les chlamydospores sont produites en plus grand nombre lorsque la culture est incubée à 37 °C. Plus rarement, certaines souches peuvent produire des macroconidies allongées en forme de « queue de rat », contenant 4-7 chambrettes et d'une taille de 7-45 µm.

**Figure 1** *Trichophyton verrucosum* en culture

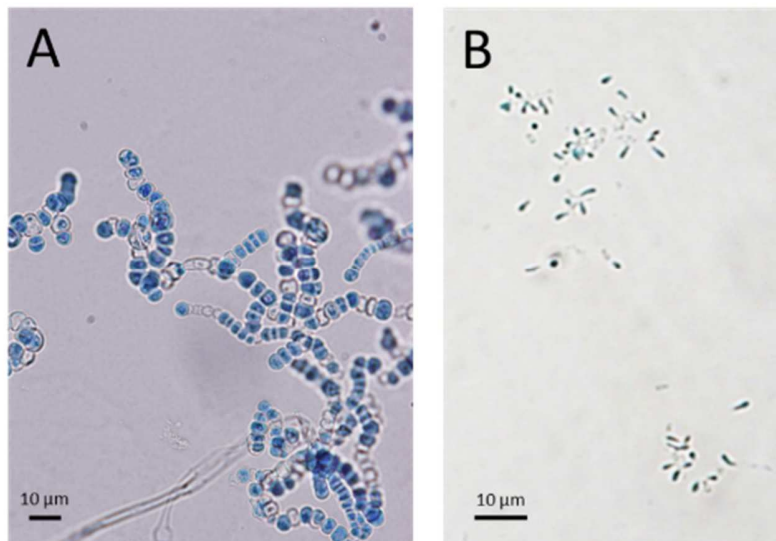


**A.** Petites colonies blanches à incolores, à croissance lente et de texture glabre à veloutée. Une meilleure croissance est observée à 37 °C sur gélose Sabouraud (7 jours).

**B.** Croissance sur gélose BCP (7 jours à 30 °C). Cont : gélose BCP non inoculée. 20170401 : gélose BCP inoculée avec le spécimen 20170401. On observe une croissance modérée, un milieu non alcalin (négatif) et une bonne hydrolyse (halo transparent).

**C.** Croissance sur gélose Christensen (7 jours à 30 °C). Cont : gélose Christensen non inoculée. 20170401 : gélose Christensen inoculée avec le spécimen 20170401. Aucun changement de couleur n'est observé : activité uréase négative.

**Figure 2** *Trichophyton verrucosum* en microscopie



**A.** Présence de chlamydospores (chlamydoconidies) en chaînes typiques. Coloration au bleu de coton. Agrandissement 400X.

**B.** Microconidies piriformes à massuées, généralement peu abondantes, disposées de chaque côté de l'hyphe. Coloration au bleu de coton. Agrandissement 400X.

### Résultats d'identification obtenus par les participants

Quatorze laboratoires ont correctement identifié à l'espèce la souche de *Trichophyton verrucosum*. Au total, 53 % des laboratoires ont rapporté un résultat accepté. Une erreur mineure a été attribuée aux laboratoires de catégorie 2 ou arbitre qui n'ont pas été en mesure d'identifier à l'espèce. Une erreur majeure a été attribuée aux huit laboratoires qui ont rapporté une identification erronée ou qui n'ont pas été en mesure de rapporter une identification. Depuis 1987, *Trichophyton verrucosum* a été inclus dans huit envois de contrôle externe de la qualité avec des taux de réussite d'identification à l'espèce variant de 39 à 92 %. Le dernier envoi remonte à 2008, le taux de succès étant supérieur avec 81 % de réponses acceptées et 41 % des laboratoires ayant identifié correctement à l'espèce.

#### Points clés à retenir

- *Trichophyton verrucosum* est un dermatophyte zoophile commun (2-3 % dermatophytes isolés) principalement associé aux bovins laitiers;
- L'infection par *T. verrucosum* provoque généralement une forte réaction inflammatoire et souvent la formation de kérion. Les lésions se retrouvent principalement à la figure, à la barbe, au cuir chevelu, aux mains et aux avant-bras;
- Les caractéristiques suivantes permettent de l'identifier :
  - croissance sur gélose contenant cycloheximide (ex. Mycosel);
  - croissance plus rapide à 37 °C que 30 °C;
  - présence de nombreuses chlamydospores en chaîne;
  - dépendance à la thiamine et à l'inositol (vitamines);
  - forte hydrolyse (halo transparent) sur la gélose BCP.



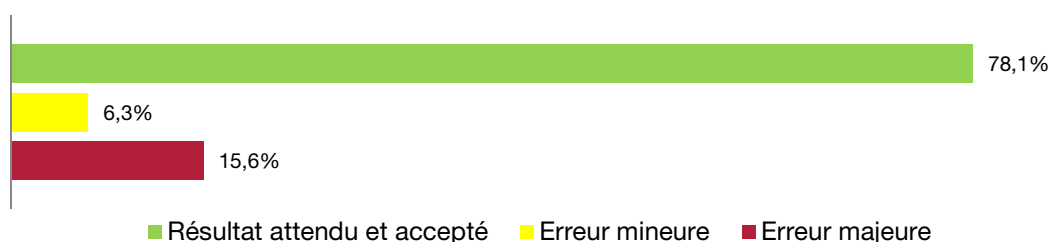
**Tableau 3 Spécimen 20170402 : *Lichtheimia* sp. (*Absidia* sp.)**

Résultats	Laboratoires participants (38)				
	Laboratoires du réseau de la santé québécois (34)			Laboratoires hors réseau (4)	
	Arbitres (3)	2 (22)	1 (9)	2 (1)	1 (3)

<i>Lichtheimia</i> sp.	2	4 <sup>2</sup>			
<i>Absidia</i> sp.		11 <sup>2</sup>	4 <sup>2</sup>	1	
<i>Lichtheimia corymbifera</i>	1	1 <sup>1</sup>			
<i>Absidia corymbifera</i>		1 <sup>1</sup>			
Champignon			1 <sup>1</sup>		
<i>Absidia</i> sp. et <i>Rhizomucor</i> sp.					1
<i>Absidia</i> sp. et <i>Aspergillus niger</i>		1 <sup>1</sup>			
Mucorale - <i>Absidia</i> sp. probable		1 <sup>1</sup>			1 <sup>1</sup>
<i>Mucor</i> sp.		1			1
<i>Rhizomucor</i> sp.		1	1		
<i>Rhizopus</i> sp.			1 <sup>1</sup>		
Zygomycète		1 <sup>1</sup>			
Analyse non effectuée			2 <sup>2</sup>		

Le chiffre en exposant correspond au nombre de laboratoires qui enverraient le spécimen à l'extérieur pour identification et/ou confirmation, parmi ce groupe.

### Performance des laboratoires de biologie médicale du Québec



### Importance clinique, distribution et épidémiologie

*Lichtheimia* sp. un champignon de distribution mondiale est une cause occasionnelle de mucormycose, principalement chez les patients immunodéprimés (ex : greffe d'organe, leucémie) ou souffrant de maladies chroniques (ex. diabète). Les champignons du genre *Lichtheimia* arrivent généralement au troisième rang, après *Rhizopus* et *Mucor* comme agent de la mucormycose. L'infection peut prendre plusieurs formes; cutanée, gastro-intestinale, disséminée, rhinocérébrale nécrosante et pulmonaire. Ces deux dernières formes d'infections sont causées par inhalation des spores de *Lichtheimia* sp. La létalité des infections disséminées est élevée, les champignons de ce groupe ayant une résistance intrinsèque à la plupart des antifongiques disponibles.

La taxonomie de *Lichtheimia* (anciennement *Absidia* et *Mycocladius*) a subi plusieurs transformations ces dernières années. Depuis 2009, les espèces d'*Absidia* thermotolérantes ont été transférées au genre *Lichtheimia*. Six espèces sont connues, mais seulement trois causent des infections chez l'homme; *L. corymbifera*, *L. ramosa* et *L. ornata* (très rarement).

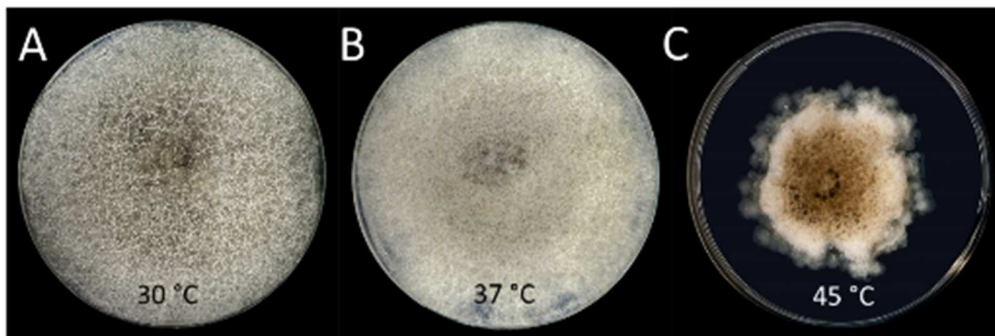
### Identification de *Lichtheimia ramosa* en laboratoire

La souche contenue dans le spécimen 20170402 était une culture pure de *Lichtheimia ramosa* mise en suspension dans de l'eau. Les caractéristiques morphologiques en culture et par microscopie ainsi que la croissance sur gélose PDA à différente température pouvaient mener à une identification de *L. corymbifera* plutôt que *L. ramosa*. Toutefois, le séquençage des régions ITS et D1D2 indique qu'il s'agit plutôt d'une souche de *Lichtheimia ramosa*. Cliniquement, peu de différences sont observées entre ces deux espèces. Toutefois, *L. ramosa* a une sensibilité légèrement réduite à l'amphotéricine et le posaconazole, deux antifongiques généralement utilisés pour combattre l'infection à *Lichtheimia*.

Après seulement 3 jours d'incubation sur gélose Sabouraud ou PDA, cet organisme produit des colonies gris pâle, très laineuses et à croissance rapide. Comme pour les autres Mucorales, aucune croissance n'est obtenue sur gélose Mycosel. Une croissance est observée à 37 °C et 45 °C (figure 3), ce qui est caractéristique des espèces *ramosa* et *corymbifera*; leur température maximale de croissance se situant entre 46 °C et 52 °C.

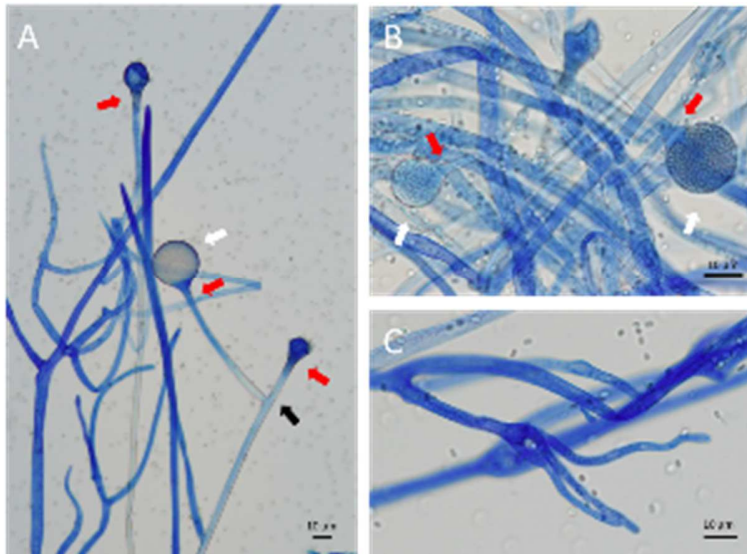
À l'examen microscopique (figure 4), on observe des hyphes larges peu ou non septés et des sporangiophores présentant un renflement (apophyse) en forme d'entonnoir sous le sporange. Des rhizoïdes primitifs sont formés (figure 4C), mais passent souvent inaperçus.

**Figure 3** *Lichtheimia* sp. en culture



*Lichtheimia ramosa* sur gélose PDA incubé 7 jours à 30 °C (A), 37 °C (B) et 45 °C (C). Texture laineuse et croissance rapide typique des Mucorales.

**Figure 4** *Lichtheimia* sp. en microscopie





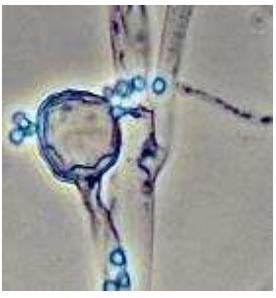
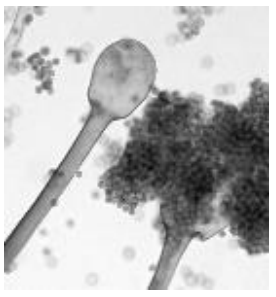
**A-B.** Présence de sporanges ronds à pyriformes contenant des sporangiospores (flèches blanches) sur un sporangiophore embranché (flèche noire). Apophyses (en forme d'entonnoir) bien visibles à la base du sporange (flèches rouges). Hyphes larges non-septés visibles. Coloration au bleu de coton. Agrandissement 400X.

**C.** De rares rhizoïdes sont parfois visibles. Coloration au bleu de coton. Agrandissement 400X.

#### Résultats d'identification obtenus par les participants

Vingt-cinq laboratoires (78 %) ont rapporté un résultat jugé acceptable. Les identifications suivantes ont été acceptées : *Lichtheimia* sp., *Absidia* sp., *Lichtheimia corymbifera* et *Absidia corymbifera*. Bien que l'identification au genre *Absidia* rapportée par plusieurs laboratoires ait été acceptée, il faut souligner que de récentes révisions taxonomiques du genre *Absidia* ont transféré les espèces thermotolérantes au genre *Lichtheimia*. Une erreur mineure a été attribuée aux deux laboratoires qui ont rapporté en plus de la souche contenue dans le spécimen une souche de *Rhizomucor* sp. ou d'*Aspergillus niger*. Des erreurs ont été attribuées aux huit laboratoires qui ont rapporté des mucormycètes autres que *Lichtheimia*. *Mucor*, *Rhizomucor* et *Rhizopus* peuvent être différenciés par l'absence d'une apophyse bien développée, leur thermotolérance respective, la présence de rhizoïdes et la présence de conidiophores embranchés (tableau 4).

**Tableau 4 Caractéristique des mucormycètes**

<i>Lichtheimia</i>	<i>Mucor</i>	<i>Rhizomucor</i>	<i>Rhizopus</i>
			
Apophyse bien développée	Apophyse absente	Apophyse absente	Apophyse absente ou peu développée
Rhizoïdes présents mais difficiles à repérer	Rhizoïdes absents	Rhizoïdes très primitifs (souvent difficiles à repérer)	Rhizoïdes bien développés et visibles
Sporangiophores ramifiés	Sporangiophores ramifiés	Sporangiophores ramifiés	Sporangiophores non-ramifiés
Espèces thermotolérantes. Température de croissance maximale : 46-52 °C	Espèces non thermotolérantes. Peu ou pas de croissance à 37 °C	Espèces thermotolérantes. Température de croissance maximale : 54-58 °C	Espèces thermotolérantes. Température de croissance maximale : 40-52 °C (sauf pour <i>R. stolonifer</i> : 30-32 °C)

### Points clés à retenir

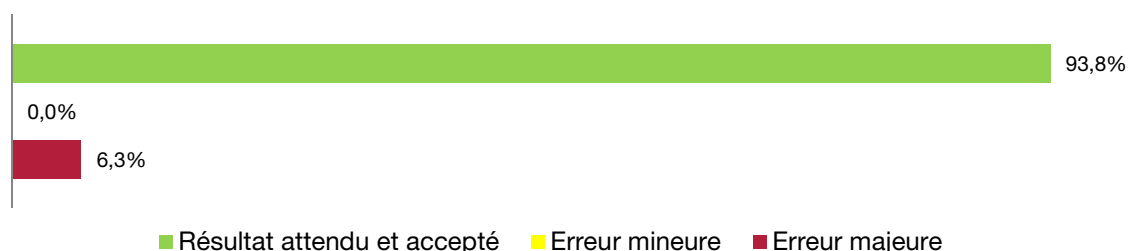
- *Lichtheimia* arrive au 3<sup>e</sup> rang des infections causées par les mucormycètes;
- Les infections à *Lichtheimia* touchent principalement les patients immunodéprimés (ex : greffe d'organe ou leucémie) ou souffrant de maladies chroniques (ex. diabète). La létalité est élevée lorsque l'infection est disséminée (invasive);
- Une reclassification taxonomique des espèces du genre *Lichtheimia* a été effectuée. L'appellation *Absidia* ou autre ne sont plus valides;
- Deux espèces similaires sont en cause dans la très grande majorité des cas d'infection : *L. ramosa* et *L. corymbifera*;
- Les caractéristiques suivantes permettent de l'identifier :
  - absence de croissance sur gélose contenant cycloheximide (ex. Mycosel);
  - croissance laineuse rapide à 37 °C et 45 °C (max. 46-52 °C);
  - présence d'une apophyse sous le sporange (en forme d'entonnoir);
  - présence de sporangiophores ramifiés.

**Tableau 5 Spécimen 20170403 : *Curvularia* sp.**

Résultats	Laboratoires participants (38)				
	Laboratoires du réseau de la santé québécois (34)			Laboratoires hors réseau (4)	
	Arbitres (3)	2 (22)	1 (9)	2 (1)	1 (3)
<i>Curvularia</i> sp.	3	21 <sup>2</sup>	4 <sup>2</sup>	1	3
Champignon			1 <sup>1</sup>		
Champignon autre que dermatophyte			1 <sup>1</sup>		
<i>Bipolaris</i> sp.			1		
<i>Drechslera</i> sp.			1		
Analyse non disponible		1 <sup>1</sup>	1		

Le chiffre en exposant correspond au nombre de laboratoires qui enverraient le spécimen à l'extérieur pour identification et/ou confirmation, parmi ce groupe.

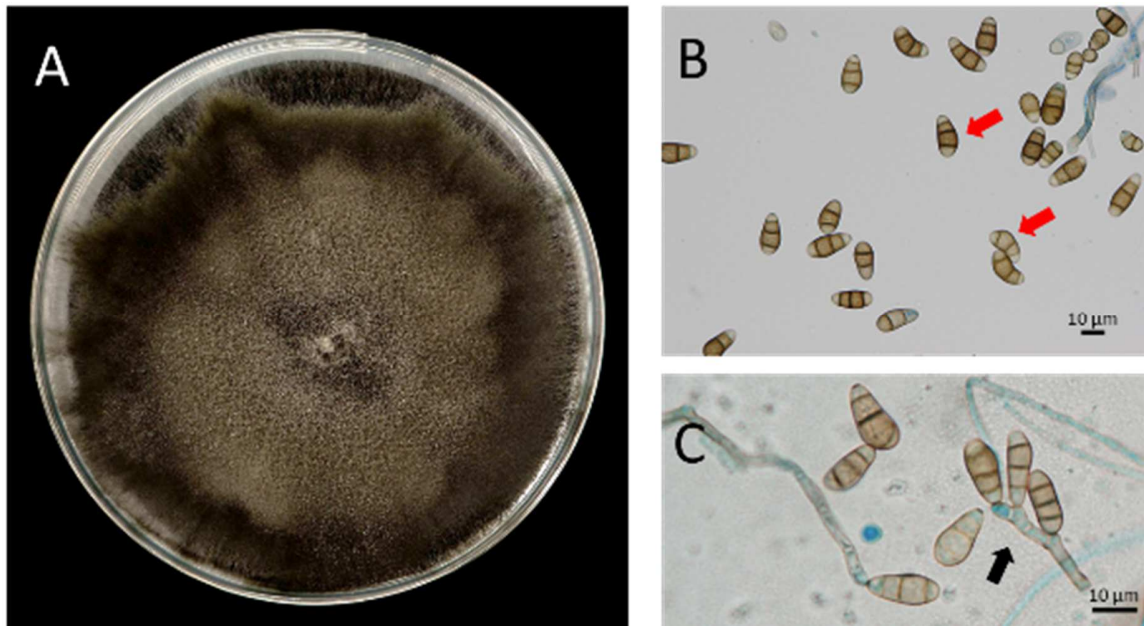
#### Performance des laboratoires du réseau de la santé québécois



#### Importance clinique, distribution et épidémiologie

*Curvularia* sp. est un champignon saprophyte dématié (pigmenté brun). Il a une répartition mondiale, bien qu'il soit particulièrement plus présent dans les régions tropicales et subtropicales. Plus de 80 espèces sont connues, mais *C. lunata* est l'espèce la plus fréquemment impliquée dans le cas d'infections chez l'homme. L'infection est généralement causée par des conidies aéroportées, mais *C. lunata* prolifère et croît dans le sol. *Curvularia* sp. est un agent pathogène opportuniste. Dans certaines régions, c'est un des principaux agents causaux de mycoses chez les patients immunosupprimés, greffés et atteints de cancer. *Curvularia* cause plusieurs types d'infections fongiques incluant des mycétomes (à grains noirs) de la peau et des tissus mous, des rhinosinusites allergiques ainsi que des infections du système nerveux central. *Curvularia* sp. possède également un pouvoir allergisant. Les manifestations fongiques allergiques comprennent l'asthme, la rhinite, la sinusite et les mycoses bronchopulmonaires. L'itraconazole et le voriconazole (et parfois l'amphotéricine) sont généralement efficaces pour le traitement de l'infection à *Curvularia*.

**Figure 5** *Curvularia* sp. en culture



**A.** En culture : champignon de couleur brune foncée, de texture veloutée avec une croissance rapide sur gélose PDA (7 jours, 30 °C).  
**B.** Au microscope : conidies dématiées (brunes) multicellulaires, à paroi mince, contenant généralement 4 logettes, une courbure et une coloration plus foncée au niveau de la deuxième cellule centrale (flèche rouge). Coloration au bleu de coton. Agrandissement 400X.  
**C.** Au microscope : Conidiophore géniculé (en zigzag ; flèche noire). Coloration au bleu de coton. Agrandissement 400X.

### Identification de *Curvularia* sp. en laboratoire

La souche contenue dans le spécimen 20170403 était une culture pure de *Curvularia lunata* mise en suspension dans de l'eau. Les espèces du genre *Curvularia* sp. possèdent des hyphes dématiés (bruns foncés). La culture est de texture veloutée à laineuse, la couleur varie du gris marron sombre au noire. La souche ne présentait aucune croissance sur gélose contenant du cycloheximide (ex. : gélose Mycosel). La croissance est optimale à 25-30 °C et peut être plus limitée à 37 °C. Les conidiophores bruns et à paroi lisse apparaissent isolés ou groupés sur le mycélium aérien. Ils sont amples, parfois ramifiés, droits, noduleux ou géniculés (en zig zag) et de 3 à 5 µm de large. De grosses conidies multiseptées ovoïdes à ellipsoïdales (de 21-31 × 8.5-12.0 µm), légèrement arquées de manière dissymétrique sont produites. Elles présentent généralement 4 logettes (contenant 3 septa). La logette apicale et la logette basale triangulaire sont peu colorées. Les logettes médianes sont plus larges et plus pigmentées. Chez certaines espèces les conidies peuvent être disposées en rosettes.

### Résultats d'identification obtenus par les participants

La performance des laboratoires pour l'identification de cette souche est très bonne avec 94 % de résultats acceptés. Une erreur majeure a été attribuée aux laboratoires qui ont rapporté une identification erronée. Contrairement aux conidies des *Drechslera* et *Bipolaris*, celles des *Curvularia* sont légèrement courbées (sauf rares exceptions) et ne sont pas diptoseptées (à paroi mince non septées par une paroi interne).

### Points clés à retenir

- *Curvularia* est un champignon dématié commun, agent pathogène opportuniste causant des :
  - mycétomes;
  - rhinosinusites allergiques;
  - infection du système nerveux central.
- *Curvularia* croît rapidement sur les milieux d'utilité générale (Sabouraud et IMA) mais aucune croissance sur gélose contenant du cycloheximide (ex. Mycosel);
- *Curvularia* se différencie des autres espèces dématiées par ses conidies multiseptées (contenant 3 septa et 4 logettes), avec une courbure caractéristique, à paroi mince et non diptoseptée.

**Tableau 6 Spécimen 20170404 : *Candida auris***

Résultats	Laboratoires participants (38)				
	Laboratoires du réseau de la santé québécois (34)			Laboratoires hors réseau (4)	
	Arbitres (3)	2 (22)	1 (9)	2 (1)	1 (3)
<i>Candida auris</i>	1 <sup>1</sup>	1 <sup>1</sup>		1 <sup>1</sup>	
<i>Candida</i> sp. ( <i>Candida auris</i> présumé)	1 <sup>1</sup>	4 <sup>4</sup>			
<i>Candida</i> sp. ( <i>Candida auris</i> / <i>haemulonii</i> présumé)		1 <sup>1</sup>	2 <sup>2</sup>		
<i>Candida haemulonii</i> ( <i>Candida auris</i> présumé)	1 <sup>1</sup>	2 <sup>2</sup>			
<i>Candida haemulonii</i> complexe/ <i>Candida auris</i>		1 <sup>1</sup>			
Levure autre que <i>C. albicans</i> / <i>dublinsiensis</i> ( <i>Candida auris</i> présumé)		1 <sup>1</sup>			
<i>Candida</i> sp.		4 <sup>4</sup>	1		
<i>Candida</i> sp. autre que <i>C. albicans</i>		1			
<i>Candida haemulonii</i>		3 <sup>1</sup>	1		
<i>Candida guilliermondii</i>		1	1		
<i>Candida pelliculosa</i>			1		
Levure autre que <i>C. albicans</i>		1	1		
Levure autre que <i>C. albicans</i> / <i>neoformans</i>			1		
Levure autre que <i>C. albicans</i> / <i>dublinsiensis</i>		2			
Levure autre que <i>C. albicans</i> / <i>dublinsiensis</i> - <i>C. neoformans</i> / <i>gattii</i>			1		1 <sup>1</sup>
Levure					2

Le chiffre en exposant correspond au nombre de laboratoires qui enverraient le spécimen à l'extérieur pour identification et/ou confirmation et/ou antifongogramme, parmi ce groupe.

### Importance clinique, distribution et épidémiologie

*Candida auris* est une levure multirésistante initialement découverte en 2009 en Asie. Depuis 2012, on constate son émergence rapide et simultanée sur plusieurs continents, et elle est maintenant rapportée dans plus de 17 pays incluant le Canada et les États-Unis. Cette levure est en cause dans plusieurs éclosons nosocomiales en milieux de soins, car elle se transmet entre personnes, est résistante à la désinfection et peut persister dans l'environnement plusieurs semaines. Lorsque l'infection est invasive, la létalité avoisine 30-70 %. Il faut toutefois mentionner que les données actuellement disponibles ne portent que sur un petit nombre de cas, ayant tous des co-morbidités importantes pouvant également avoir eu un impact sur la survenue du décès. Toutes ces caractéristiques en font une levure unique et particulièrement virulente.



L'identification correcte est donc primordiale pour prévenir sa propagation et le traitement adéquat des patients atteints. Ceci est par contre difficile puisque la plupart des systèmes d'identification biochimiques en usage dans nos laboratoires mènent à une identification erronée de *C. auris*.

### Identification de *Candida auris* en laboratoire

Le Cinq et l'AMMIQ recommandent que toutes les levures isolées de sites stériles (ex. sang, LCR) soient identifiées à l'espèce pour permettre un traitement initial adapté en fonction des profils de sensibilité propres à chaque espèce.

L'identification à l'espèce des levures provenant de sites non stériles doit aussi être envisagée dans certains cas, particulièrement si le patient ne répond pas au traitement antifongique ou lors d'éclosions dans le cadre d'enquête épidémiologique.

Tel que mentionné précédemment, *C. auris* donne une identification erronée pour la plupart des systèmes d'identification biochimique en usage au Québec tel que le VITEK2 YST (versions 7.01 ou antérieures), API 20C AUX et le Phoenix Yeast ID. La nouvelle version du VITEK2 YST (version 8.01) prochainement disponible devrait être en mesure d'identifier correctement les souches de *C. auris*. Il serait important que les utilisateurs de ce système d'identification contactent leur représentant afin de procéder à l'installation dès que possible.

*C. auris* peut être identifié correctement sur les systèmes d'identification MALDI-TOF (de Bruker et bioMérieux), mais seulement en utilisant les banques RUO de recherche des manufacturiers. Aucune identification de *C. auris* n'est obtenue avec les banques de spectres pour usage clinique. L'identification par séquençage de la région D1D2 ou ITS de l'ADNr permet aussi l'identification sans ambiguïté de *C. auris*. Ces analyses sont disponibles au LSPQ.

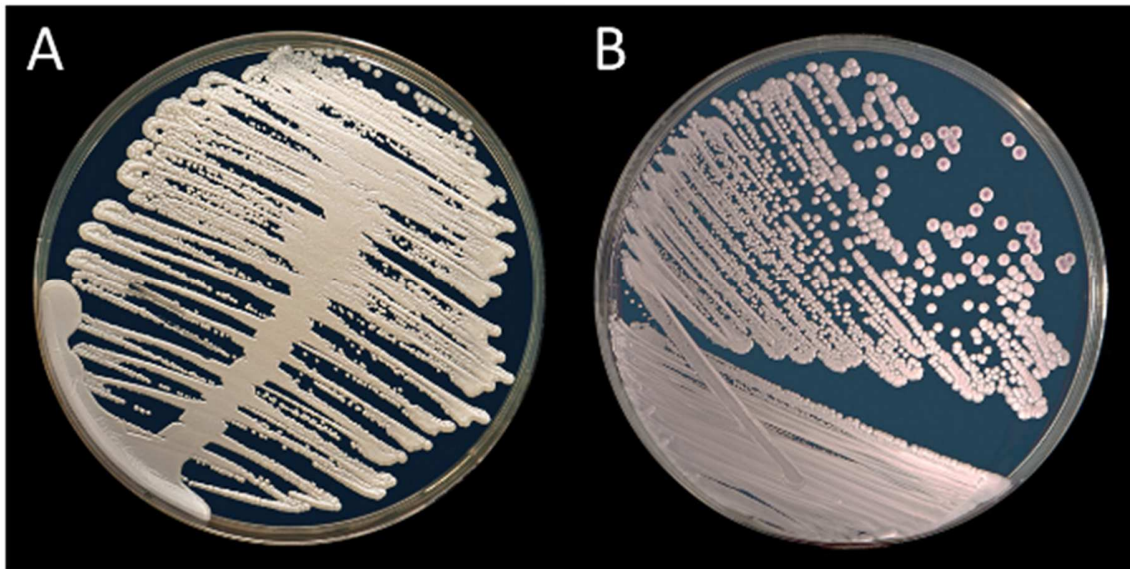
Les tests complémentaires suivants peuvent aussi aider à l'identification d'un *C. auris*.

Tests complémentaires	Résultat pour <i>Candida auris</i>
Couleur des colonies sur gélose chromogénique CHROMagar <i>Candida</i>	Rose pâle (parfois mauve pâle)
Thermotolérance	Bonne croissance à 40-42 °C (incubation de 24 à 48 h)
Filamentation sur gélose de farine de maïs (« corn meal »)	Absence d'hyphes et de pseudohyphes, levures ovales allongées de 2-5 µm

Deux protocoles AMMIQ-LSPQ pour l'isolement et le dépistage de *C. auris* ainsi qu'un algorithme d'identification seront prochainement disponibles sur le site Web du LSPQ. Un document portant sur les mesures de prévention et de contrôle contre la transmission de *Candida auris* dans les milieux de soins sera publié prochainement par le Cinq.

Il est important de rapporter tous les cas à vos équipes de prévention et contrôle des infections et à votre direction de santé publique, ainsi que de faire suivre les souches pour confirmation au LSPQ.

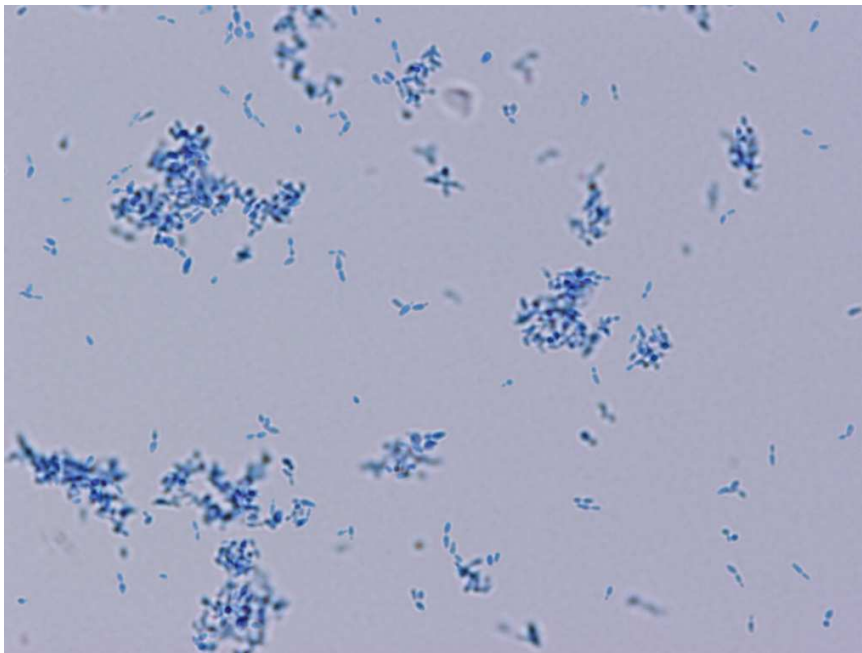
**Figure 6** *Candida auris* en culture



**A.** Colonies de couleur crème, de texture crémeuse et lisse sur gélose Sabouraud (2 jours, 30 °C).

**B.** Colonies de couleur rose pâle à mauve pâle sur gélose chromogénique CHROMagar Candida® (2 jours, 35 °C).

**Figure 7** *Candida auris* en microscopie



Petites levures ovoïdes, allongées à cylindriques (2 à 5 µm) à l'examen microscopique direct provenant d'une gélose de farine de maïs. Cellules seules ou disposées en agrégats de deux. Absence d'hyphes et de pseudohyphes (2 jours, 30 °C). Coloration au bleu de coton. Agrandissement 400X.

### Résultats d'identification obtenus par les participants

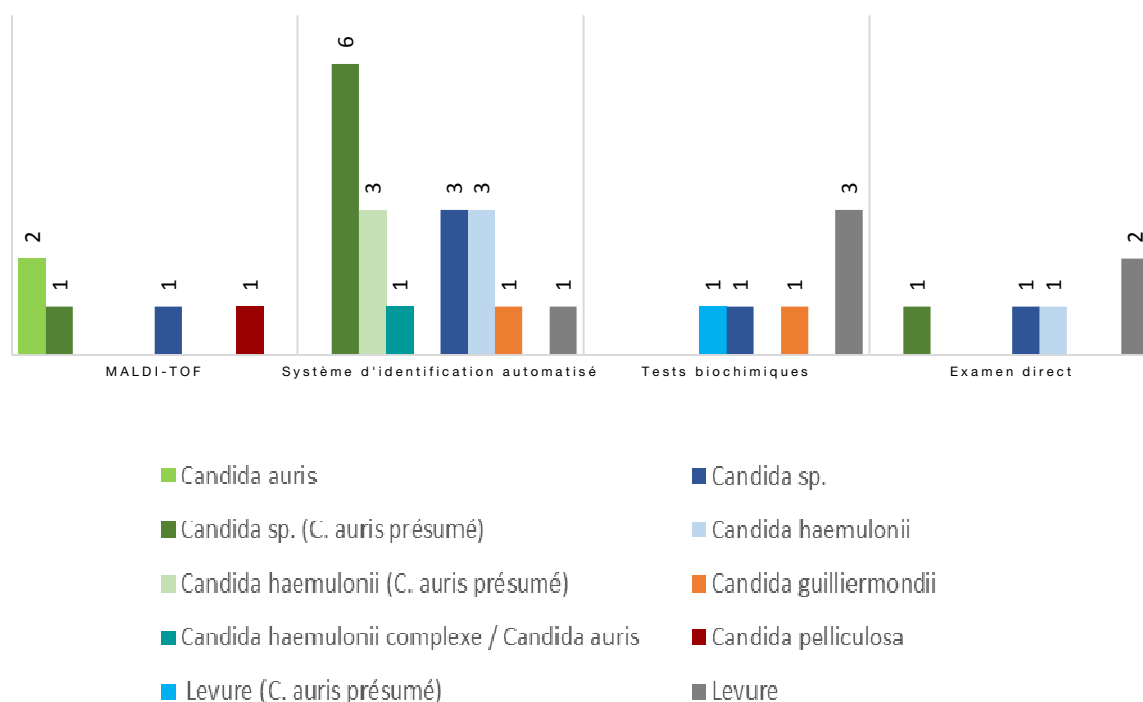
Le spécimen 20170404 contenant une souche de *Candida auris* a été envoyé à titre éducatif lors de ce contrôle externe de la qualité. Dans le contexte actuel d'émergence de souches multirésistantes ainsi que l'identification erronée par la plupart des systèmes, le comité a jugé important d'informer les laboratoires de la situation.

Lors de ce contrôle, cinq laboratoires ont utilisé un système d'identification MALDI-TOF pour l'identification de cette souche. Deux de ces laboratoires ont correctement identifié à l'espèce la souche de *C. auris*, un laboratoire a rapporté un *C. auris* présumé, un laboratoire a rapporté un *Candida* sp. et un autre laboratoire a rapporté *C. pelliculosa*.

L'identification rapportée par les participants selon le système d'identification utilisé est présentée à la figure 8. La majorité des laboratoires (n = 18) utilise un système d'identification automatisé. Dix de ces laboratoires ont indiqué qu'ils auraient référé la souche afin d'éliminer la possibilité d'un *C. auris*.

Parmi l'ensemble des participants, 19 laboratoires n'ont pas soulevé la possibilité d'une souche de *C. auris* et de ceux-ci, 14 n'ont pas indiqué qu'ils auraient référé la souche pour confirmation de l'identification.

**Figure 8 Méthodes utilisées pour l'identification du spécimen 20170404**



## Tests de sensibilité

Bien que les souches de *C. auris* sont fréquemment résistantes à une ou plusieurs classes d'antifongiques, la souche envoyée dans le cadre de ce contrôle présentait des CMI faibles à tous les antifongiques (tableau 7). Il est d'ailleurs important de noter que les seuils de résistance aux antifongiques de *Candida auris* ne sont pas encore clairement établis, mais des critères d'interprétation intérimaires ont été produits par les CDC. Dans une étude récente, la proportion de résistance à divers antifongiques basée sur les critères établis pour les autres espèces de *Candida*, est de > 90 % pour le fluconazole, 50 % pour le voriconazole, 15-35 % pour l'amphotéricine B, 2-8 % pour les échinocandines et 6 % pour le 5-fluorocytosine. La moitié des souches est résistante à deux classes ou plus d'antifongiques et une résistance aux trois classes principales d'antifongiques a été rapportée chez 4 % des souches isolées.

**Tableau 7 Résultats de sensibilité de la souche *Candida auris* obtenus au LSPQ par la méthode de microdilution en bouillon**

Antifongique	CMI (mg/L)	Interprétation	Critères d'interprétation intérimaires du CDC
5-fluorocytosine	≤ 0,06	Aucun critère établi	Non-disponible
Amphotéricine B	2	Aucun critère établi	CMI ≥ 2 mg/L
Anidulafungine	0,12	Aucun critère établi	CMI ≥ 4 mg/L
Caspofungine	0,25	Aucun critère établi	CMI ≥ 2 mg/L
Fluconazole	4	Aucun critère établi	CMI ≥ 32 mg/L
Itraconazole	0,12	Aucun critère établi	Non-disponible
Micafungine	0,12	Aucun critère établi	CMI ≥ 4 mg/L
Posaconazole	0,06	Aucun critère établi	Non-disponible
Voriconazole	0,016	Aucun critère établi	Non-disponible

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

Sept laboratoires participants ayant correctement identifié la souche de *C. auris* ou ayant rapporté un *Candida* sp. avec une possibilité de *C.auris* ont effectué un test de sensibilité aux antifongiques. Tous ces laboratoires auraient référé la souche au LSPQ pour confirmation de l'espèce. Deux laboratoires ont correctement indiqué qu'il n'existe pas de critères établis pour d'interprétation pour *Candida auris*. Les autres laboratoires ont toutefois rapporté des interprétations.

**Tableau 8 Méthodes utilisées pour l'antifongogramme**

Méthode	Nombre de laboratoires
Microdilution - Vitek 2 AST-YS-07	3
Diffusion en disque (Kirby-Bauer)	2
Microdilutions – Sensititre Vision System Yeast One	1
Microdilutions en bouillon - CLSI	1

**Tableau 9 Résultats de sensibilité de la souche de *Candida auris* rapportés par les laboratoires ayant effectué un test de sensibilité aux antifongiques (n=7)**

Antifongique	Technique	Aucun critère établi	Sensible	Intermédiaire	Résistant	SDD
5-fluorocytosine	CMI	1	1			
	KB					
Amphotéricine B	CMI	1			1	
	KB					
Anidulafungine	CMI	1		1		
	KB					
Caspofungine	CMI	1	2			
	KB					
Fluconazole	CMI	2	2	1		
	KB		1			1
Itraconazole	CMI	1				
	KB					
Micafungine	CMI	2	2			
	KB					
Posaconazole	CMI	1				
	KB					
Voriconazole	CMI	1	2			
	KB		1			

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice, méthode de microdilutions ; **KB** : Kirby Bauer, méthode de diffusion en disque.

**SDD** : Sensibilité dépendante de l'atteinte d'une concentration sanguine maximale (« susceptible dose dependent »).

La majorité des documents du CLSI qui se rapportent aux tests de sensibilité en mycologie sont en révision et leurs nouvelles versions devraient être publiées au cours de l'année 2018. Pour les levures et les champignons filamenteux, les critères d'interprétation et les valeurs attendues pour les souches contrôles pour la méthode de microdilution et de diffusion en disque seront transférés aux nouveaux documents M60 et M61 du CLSI. La méthodologie et les ECV (valeurs de CMI limites naturelles ou « sauvages » spécifiques à chaque espèce) ont récemment été publiées dans les documents M57 et M59 du CLSI. Plusieurs ECV sont désormais disponibles pour différentes combinaisons d'antifongiques et espèces d'*Aspergillus* et de *Candida* pour lesquelles il n'existe présentement pas de critères d'interprétation clinique.

### Points clés à retenir

- *Candida auris* est une levure multirésistante qui s'est propagée simultanément sur plusieurs continents, et elle est maintenant rapportée dans plus de 17 pays incluant le Canada et les États-Unis;
- Cette levure est unique et particulièrement virulente, car :
  - elle devient multirésistante rapidement;
  - elle se transmet aisément entre patients (infections nosocomiales);
  - elle persiste dans l'environnement et résiste à certains désinfectants;
  - elle est associée à une létalité élevée lorsque l'infection est invasive.
- La plupart des systèmes d'identification actuels ne permettent pas de l'identifier ou donnent des identifications erronées. L'identification est possible par séquençage ou avec les banque de données de recherche RUO pour les systèmes d'identification MALDI-TOF (disponibles au LSPQ);
- L'AMMIQ et le LSPQ ont produit un algorithme d'identification et des protocoles pour l'isolement et le dépistage de *C. auris*. Ceux-ci seront publiés sous peu sur le site web du LSPQ;
- Nous vous prions de rapporter tous les cas à vos équipes de PCI et votre DSP et de faire suivre les souches pour confirmation au LSPQ.

## Références

1. AMMIQ – LSPQ. 2017. Isolement et dépistage de *Candida auris* à partir du protocole du CDC avec bouillon Sabouraud dextrose enrichi en sel et bouillon Sabouraud dulcitol enrichi en sel. <https://www.inspq.qc.ca/lspq/protocoles-de-laboratoire> (disponible prochainement)
2. AMMIQ – LSPQ. 2017. Isolement et dépistage de *Candida auris* sur gélose chromogénique. <https://www.inspq.qc.ca/lspq/protocoles-de-laboratoire> (disponible prochainement)
3. AMMIQ – LSPQ. 2017. Recommandations et algorithme pour l'identification de *Candida auris* selon système d'identification utilisé. <https://www.inspq.qc.ca/lspq/protocoles-de-laboratoire> (disponible prochainement)
4. Castanheira M, Messer SA, Rhomberg PR, Pfaller MA. 2016. Antifungal susceptibility patterns of a global collection of fungal isolates : results of the SENTRY Antifungal Surveillance Program (2013). *Diagn Microbiol Infect Dis* 85:200–204.
5. CDC, 2017a, General information about *Candida auris*, mise à jour du 14 juillet 2017, consulté le 26 juillet 2017 au <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/candida-auris-qanda.html>
6. CDC, 2017b, *Candida auris*, mise à jour du 14 juillet 2017, consulté le 26 juillet 2017 au <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/candida-auris.html>
7. CINQ-LSPQ. 2017. Recommandations et algorithme pour l'identification de *Candida auris* selon système d'identification utilisé. (Disponible prochainement).
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Principles and Procedures for Detection of Fungi in Clinical Specimens-Direct examination and Culture; Approved Guideline (M54A)32 No. 14. Wayne, PA.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016. Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing - M59 1st Ed. CLSI, Wayne, PA.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016. Principles and Procedures for the Development of Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing - M57 1st Ed. CLSI, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. Wayne, PA.
12. Edwards JE. 2015. *Candida* species, p. 2879–2894. In Bennett, J, Dolin, R, Blaser, M (eds.), *Principle and Practice of Infectious Diseases*, 8th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, PA.
13. Kane J, Summerbell RC, Sigler L, Krajden S, Land. G. 1997. *Laboratory Handbook of Dermatophytes*. Star Publishing, Belmont, CA.
14. Larone DH. 2011. *Medically important fungi: a guide to identification*, 5th edition. American Society for Microbiology, Washington DC.
15. Lockart, S.R., K.A, Etienne, S. Vallabhaneni, et al, 2016, Simultaneous Emergence of Multidrug-Resistant *Candida auris* on 3 Continents Confirmed by Whole-Genome Sequencing and Epidemiological Analyses. *Clinical Infectious Dis*, 2016, Oct 20 European Centre for Disease Prevention and Control. *Candida auris* in healthcare settings – Europe – 19 December 2016. Stockholm: ECDC.
16. St-Germain G, Summerbell RC. 2011. *Identifying Fungi - A Clinical Laboratory Handbook - 2nd edition*. Belmont CA.
17. Woo PC, Leung S-Y, Ngan AH, Lau SK, Yuen K-Y. 2012. A significant number of reported *Absidia corymbifera* (*Lichtheimia corymbifera*) infections are caused by *Lichtheimia ramosa* (syn. *Lichtheimia hongkongensis*): an emerging cause of *mucoormycosis*. *Emerging Microbes & Infections*. 1.8 (2012): e15.