

# Dépistage de *Candida auris* par PCR en temps réel sur plateforme LIAISON MDX (DiaSorin)

PROTOCOLES DE LABORATOIRE LSPQ

AVIS ET RECOMMANDATIONS

AOÛT 2024 (VERSION 1.0)

## SOMMAIRE

Méthodologie de l'élaboration du protocole	2
Principe de la méthode	2
Mesures de sécurité particulières Responsabilités Matériel requis	3
Contrôle de la qualité	5
Phase pré-analytique	6
Phase analytique	8
Analyse et interprétation des résultats	11
Limites de la méthode Précautions spéciales et supplémentaires	14
Entretien et calibration	15
Références	16

## AVANT-PROPOS

L'Institut national de santé publique du Québec est le centre d'expertise et de référence en matière de santé publique au Québec. Sa mission est de soutenir le ministre de la Santé et des Services sociaux dans sa mission de santé publique. L'Institut a également comme mission, dans la mesure déterminée par le mandat que lui confie le ministre, de soutenir Santé Québec, la Régie régionale de la santé et des services sociaux du Nunavik, le Conseil cri de la santé et des services sociaux de la Baie James et les établissements dans l'exercice de leur mission de santé publique.

La collection *Avis et recommandations* rassemble sous une même bannière une variété de productions scientifiques qui apprécient les meilleures connaissances scientifiques disponibles et y ajoutent une analyse contextualisée recourant à divers critères et à des délibérations pour formuler des recommandations.

Le présent document du laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) décrit un protocole de dépistage par PCR en temps réel de *Candida auris* sur la plateforme LIAISON MDX (DiaSorin).

Il a été élaboré à la demande des microbiologistes-infectiologues et de la Direction de la biovigilance et de la biologie médicale (DBBM) dans le cadre des activités de soutien au réseau hospitalier offert par le LSPQ et d'un financement par les activités régulières du LSPQ. Ce document s'adresse aux microbiologiste-infectiologues, aux technologistes médicaux œuvrant dans les laboratoires diagnostiques en microbiologie du réseau de la Santé du Québec.

Nous espérons qu'il vous sera utile.

## MISE EN CONTEXTE

*Candida auris* est une levure pathogène avec un fort potentiel de multirésistance. Depuis 2012, on constate son émergence globale rapide et simultanée, et elle est maintenant rapportée dans plus de 50 pays sur six continents. Aux États-Unis, *C. auris* est désormais bien implantée avec 8131 cas (d'infection et de colonisation)<sup>1,2</sup> en 2022 comparativement à seulement 12 cas au Canada pour la même période. Cette levure est en cause dans plusieurs éclosions nosocomiales en milieux de soins et sa létalité est élevée lorsque l'infection est invasive. Elle colonise la peau et les muqueuses, se transmet entre personnes par contact et peut persister dans l'environnement plusieurs semaines. On estime qu'environ 5 - 10 % des patients colonisés finiront par faire une fongémie<sup>3</sup>. Toutes ces caractéristiques en font une levure particulièrement virulente. La détection de l'état de porteur permet de mettre en place des mesures de prévention et de contrôle des infections afin de limiter sa propagation en milieu hospitalier.

La PCR de détection en temps réel présentée ici permet de confirmer la présence de *C. auris* et l'état de porteur chez le patient ayant été dépisté (aines/aisselles et/ou narines) avec un écouvillon liquide AMIES. Elle peut aussi servir au dépistage environnemental de *C. auris* dans un milieu de soins.

Le dépistage par PCR en temps réel s'avère avantageux comparativement au dépistage sur gélose chromogénique, car il réduit les délais d'analyse (la culture est évitée, la PCR pouvant être effectuée directement sur le spécimen prélevé) et il permet le dépistage simultané sur de nombreux patients (ex. lors d'éclosions) sans avoir de problématiques de gestion de commande et de péremption de milieu associées au dépistage par la culture sur géloses chromogéniques.

## 1 MÉTHODOLOGIE DE L'ÉLABORATION DU PROTOCOLE

Cette procédure décrit le protocole de dépistage par PCR en temps réel de *Candida auris* sur la plateforme MDX Diasorin<sup>4-7</sup>. Il s'agit d'un protocole maison ayant été validé et développé au laboratoire de santé publique du Québec en respect de la norme ISO 15189, en collaboration avec le Comité sur les analyses de diagnostic moléculaire en microbiologie (CADMM). Les données de validation sont disponibles sur demande.

Ce document a été enrichi par une consultation auprès de microbiologistes experts en mycologie et a fait l'objet d'une révision par les pairs.

## 2 PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La méthode décrite est une PCR en temps réel qui permet, après une étape de prétraitement/lyse externe, l'amplification et la détection qualitative de *C. auris* directement à partir d'un écouvillonnage. Une extraction d'acides nucléiques complète n'est donc pas requise avant de procéder à la PCR.

Les amorces *Candida auris* Primer Pair (DiaSorin Molecular) ciblent, avec une sonde fluorescente FAM, la région ITS2 de l'ADN ribosomal de *C. auris*, un gène conservé et présent en plusieurs copies dans le génome de cette levure. Une cible d'ADN contrôle est aussi amplifiée simultanément avec amorces spécifiques et sonde Quasar 670 et sert de témoin d'amplification interne pour détecter un échec et/ou une inhibition de la PCR. La PCR en temps réel est réalisée avec la trousse TA Master Mix

(DiaSorin Molecular) sur thermocycleur LIAISON® MDX (avec le logiciel LIAISON® MDX Studio), en utilisant le disque universel de 96 puits et les accessoires associés.

**Note :** Les amorces de DiaSorin Molecular sont homologuées comme réactifs approuvés de Classe II par Santé Canada, mais il ne s'agit pas d'une trousse de dépistage complète. Le test pour le dépistage de *C. auris* sur LIAISON MDX présenté ici est encore un test maison (développé en laboratoire - LDT) qui doit être soumis à une validation locale complète par les laboratoires désirant l'utiliser dans un but de diagnostic clinique.

Afin de permettre aux laboratoires de procéder à une vérification, les données brutes obtenues lors de la validation au LSPQ peuvent être fournies sur demande.

### 3 MESURES DE SÉCURITÉ PARTICULIÈRES

Les spécimens provenant de patients ainsi que les contrôles doivent être manipulés comme s'il s'agissait de matériel infectieux :

- Manipulation des échantillons sous enceinte de sécurité biologique (ESB);
- Équipement de protection individuel à revêtir lorsqu'une personne effectue le test sur l'appareil DiaSorin Liaison™ MDX :
  - Blouse
  - Gants de nitrile, sans poudre

### 4 RESPONSABILITÉS

Les technologistes sont responsables de générer des résultats de qualité conformes à cette procédure.

Les microbiologistes-infectiologues et les responsables du laboratoire s'assurent que le personnel est formé adéquatement, que la procédure est maintenue à jour et que les résultats sont valides.

### 5 MATÉRIEL REQUIS

#### 5.1 Appareils et consommables

- LIAISON® MDX (DiaSorin Réf. MOL1001) avec le logiciel LIAISON® MDX Studio version 1.1 ou plus récente;
- Disque universel (Universal Disc - DiaSorin Ref. MOL1401);
- Pellicule autocollante pour disque universel (Universal Disc Cover Tape - DiaSorin Ref. MOL1500);
- Spatule pour sceller le disque;
- Support bleu métallique de DiaSorin pour refroidissement du disque universel;

- Pipette 0,5 à 10 µL;
- Pipette 10 µL à 100 µL;
- Embouts filtrés, stériles et exempts de nucléase pour les pipettes;
- Micro-tubes de 1,5 mL ou 2 mL, résistant à la chaleur (Starstedt Ref : 72.693.005 ou équivalent);
- Bloc chauffant avec ou sans agitation, réglé à 60 °C (Eppendorf ThermoMixer F ou équivalent);
- Gants de nitrile à usage unique, non poudrés;
- Agitateur de type vortex;
- Centrifugeuse;
- Sac déchet biorisque.

## 5.2 Trousse et réactifs

- Solution de lyse fongique (Fungal lysis solution - DiaSorin Réf. MOL9090)
- TA Master mix (DiaSorin Réf. MOL9070);
- Jeu d'amorces *Candida auris* (*Candida auris* Primer Pair - DiaSorin Réf. MOL9059);
- Contrôle interne d'extraction et d'amplification (Simplexa™ Extraction and Amplification Control Set, Réf. MOL9000) contenant :
  - Extraction and Amplification Control – Primer Pair (MOL9005);
  - Extraction and Amplification – Control DNA (MOL9001);
- Contrôle positif : *Candida auris* Z485 (Zeptomatrix Réf. 0804386) ou contrôle positif maison à partir d'une suspension de *C. auris*;
- Eau DEPC, saline ou substrat des échantillons (milieu liquide AMIES), à utiliser comme contrôle négatif.

## 5.3 Conservation et entreposage des réactifs

- Conserver les réactifs à une température comprise entre -10 °C et -30 °C (ne pas utiliser de congélateur à dégivrage automatique);
- Ne pas utiliser les kits ou les réactifs au-delà de leur date limite d'utilisation/d'expiration;
- Laisser les réactifs décongeler à température ambiante (entre environ 18 °C et 25 °C) avant utilisation. Une fois décongelés, utiliser les réactifs rapidement (en moins de 30 min);
- Une fois décongelés, entreposer les réactifs entre 2 et 8 °C, pour un maximum de 30 jours, en s'assurant de protéger les réactifs de la lumière;
- Des aliquots des réactifs peuvent être congelés. Ne pas faire plus de 2 cycles de gel-dégel pour les différents réactifs (donc maximum 1 cycle de gel-dégel pour les aliquots);
- **Ne pas mélanger les réactifs au vortex.** Mélanger en pipettant doucement de haut en bas ou par inversion (6 à 8 fois). Ne centrifuger que brièvement (moins de 5 secondes);

- Ne pas congeler le mélange réactionnel une fois préparé;
- Utiliser le support bleu métallique (réfrigéré à 4 °C) lors du chargement des spécimens sur le disque universel. Ne pas placer au congélateur, car de la condensation pourrait se former. Décontaminer avec alcool 70 % entre utilisations.

## 6 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

### 6.1 Contrôles utilisés

- Un échantillon contrôle positif;
  - *Candida auris* Zeptomatrix Z485
  - ou**
  - Une solution maison préparée de *C. auris* à  $1 \times 10^5$  UFC/ mL\*
- Un contrôle négatif - eau DEPC, saline ou milieu AMIES;
- Un témoin d'amplification interne (TAI) et d'extraction (Simplexa™ Extraction and Amplification Control Set, MOL9000) est ajouté au mélange réactionnel de la PCR.

#### \*Préparation du contrôle positif maison :

Préparez une suspension de *C. auris* (souche LSPQ-01312, ATCC MYA-5002 ou autre) dans la saline et ajuster à une densité de 0.5 McFarland. Diluez 1/100 (0.5 mL de cette suspension dans 50 mL de saline), mélangez bien et préparez des aliquots de 100 µL en leur assignant un numéro de lot et date de production. Congelez à - 55 °C ou moins jusqu'à utilisation. La stabilité de ces aliquots est de 2 ans. Ces aliquots sont à usage unique et une fois décongelées l'excédent non utilisé doit être jeté dans un contenant biorisque.

### 6.2 Fréquence

- Les contrôles positifs et négatifs sont ajoutés à chacune des séries d'échantillons lors de l'étape de lyse.

Un contrôle interne de DiaSorin est ajouté dans le mélange réactionnel et est donc présent dans chacun des puits contenant un échantillon lors de la PCR.

## 6.3 Résultats attendus pour les contrôles

Tableau 1 Contrôles et résultats attendus

Contrôles	Résultats attendus <sup>‡</sup>	
	TAI DiaSorin	<i>C. auris</i> ITS 2
Contrôle négatif (Après lyse)	Ct 25 à 40	Ct > 40 (0 au rapport)
Contrôle positif (Après lyse)	Ct 25 à 40	Ct 15 à 30

Note : Lorsque la valeur Ct est inférieure ou égale à 40 ( $\leq 40$ ), les courbes d'amplification doivent correspondre à une cinétique exponentielle.

Le TAI (contrôle interne) de DiaSorin doit avoir une valeur Ct inférieure ou égale à 40 ( $\leq 40$ ) pour être valide, mais l'amplification du contrôle interne peut être inhibée complètement par compétition si une forte charge de *C. auris* est présente dans l'échantillon. Ainsi, un TAI (contrôle interne) négatif est considéré valide lorsque le résultat est positif pour la cible *C. auris*.

Si les valeurs Ct des contrôles négatifs et positifs ne sont pas comprises dans la plage attendue, la série est invalidée et tous les échantillons et contrôles doivent être répétés et analysés de nouveau. La reprise de la lyse peut aussi être considérée au besoin. Compléter les registres applicables pour toute situation anormale pour les contrôles et reprendre les analyses au besoin.

## 7 PHASE PRÉ-ANALYTIQUE

### 7.1 Échantillons acceptés et volume requis

- Un minimum de 50 µL de spécimen est requis pour l'analyse;
- Les échantillons acceptés sont des écouvillonnages cutanés (nasal/axillaire/inguinal) ou environnementaux dans un milieu de transport AMIES liquide de type ESwab™ (ref: 220245 ou équivalent – sans charbon) ou aliquots de ceux-ci;

Note : Les autres milieux de transports n'ont pas été évalués et ne sont pas acceptés. Les écouvillons reçus dans un milieu de transport Amies solide (gélosé) seront refusés (ex. M40). L'agar-agar présent dans ces milieux inhibe l'amplification PCR. Certains laboratoires ont rapporté une bonne performance avec un écouvillon transporté dans milieu Stuart, après transfert dans un tampon TE et analyse avec ce même protocole PCR (Ahmed et al., 2022), mais cela n'a pas été évalué localement par le LSPQ.

## 7.3 Prélèvement et transport

Effectuer au minimum un prélèvement au niveau des aisselles et aines avec un seul écouvillon pour le dépistage de *C. auris*. L'ajout d'un prélèvement au niveau du nez augmente la sensibilité de détection. Lorsque le même écouvillon est utilisé pour prélever tous les sites d'une personne, procédez dans l'ordre suivant : nez (narines), aisselles et aines.

Se référer à la fiche du CINQ- « Mesures de prévention et de contrôle du *Candida auris* dans les milieux de soins » pour plus de détails sur les modalités de dépistage<sup>8</sup>.

### Spécifiquement :

- Ouvrez l'emballage de l'écouvillon en saisissant la tige à l'extrémité opposée de l'embout souple. Laissez l'écouvillon dans l'emballage pour éviter toute contamination. Ouvrir l'emballage contenant le tube de milieu de transport;
- Retirez l'écouvillon de l'emballage. Écouvillonner en frottant fermement au moins 5 fois de chaque côté au niveau des aisselles et aines. Les narines pourraient également être écouvillonnées selon les directives locales du milieu de soins;
- Insérer l'écouvillon dans le tube de milieu de transport;
- Identifier l'écouvillon/l'échantillon et la requête selon la procédure en vigueur;
- Acheminer l'échantillon au laboratoire en moins de 96 heures. Le transport inter-établissement doit s'effectuer dans un contenant de catégorie B, en le gardant réfrigéré ou à température de la pièce. Assurez-vous que l'échantillon est protégé de toute chaleur excessive pendant le transport;
- Les échantillons reçus au laboratoire peuvent être conservés entre 2 et 8 °C durant 96 h (4 jours) avant de procéder à l'analyse. Si le délai excède 96 h, ceux-ci peuvent être congelés (à 20 °C ou moins) pour éviter la dégradation du spécimen.

**NOTE :** *C. auris* s'avère très stable dans le milieu de transport Amies liquide. Dans des tests de stabilité effectués au LSPQ sur des échantillons simulés, aucune perte de viabilité n'a été constatée pour *C. auris* après 4 semaines d'incubation pour des écouvillons Amies maintenus à la température de la pièce, réfrigérés ou congelés (-70°C). À température pièce, on a d'ailleurs constaté au LSPQ que la charge de *C. auris* augmentait dans le temps dans le milieu Amies liquide sur ces spécimens simulés. Cela reste par contre à vérifier sur des spécimens provenant de patients.

## 7.4 Réception du spécimen et critères de rejet

- La réception doit se faire selon les procédures usuelles propres à chaque laboratoire;
- Rejeter les échantillons suivants :
  - Tout spécimen autre qu'un écouvillon dans milieu de transport Amies liquide (ou aliquots de ceux-ci);
  - Selon les critères de rejet usuels (fuite du spécimen, contenant endommagé, spécimen sans requête ou identifiant, mauvaises conditions de conservation, milieu de transport périmé);
  - Spécimen n'ayant pas été analysé dans les délais requis (si plus de 4 jours se sont écoulés avant la réception au laboratoire sans que l'échantillon ait été congelé).

Dans le cas d'un rejet, celui-ci peut être signalé au prescripteur ayant demandé l'analyse en indiquant la cause au rapport.

## 8 PHASE ANALYTIQUE

### 8.1 Lyse des échantillons à analyser

1. Démarrer le bloc chauffant et régler la température à 60 °C;
2. Décongeler les échantillons à température pièce au besoin;
3. Bien mélanger au vortex (5 - 10 secondes) les écouvillons dans leur milieu de transport ou les aliquots de ceux-ci;
4. Sous une ESB, déposer 50 µL des échantillons et contrôles dans des tubes de 2 mL identifiés;
5. Ajouter, à chacun des tubes, 5 µL de la solution Fungal Lysis Réf. (MOL9090);
6. Mélanger brièvement les échantillons au vortex;
7. Chauffer les échantillons à 60 °C pendant 30 minutes à l'aide d'un bloc chauffant (avec ou sans agitation – à 300 RPM si avec agitation);
  - Si les échantillons doivent être testés le jour même, les conserver entre 2 et 8 °C ou sur glace, sinon les congeler à – 20 °C ou moins afin d'éviter la dégradation
8. Pendant le temps de chauffage, procéder à l'étape suivante.

**Note : Se rappeler d'aussi faire le traitement de lyse d'un contrôle positif et négatif pour chacune des séries d'échantillons testés.**

## 8.2 Configuration de la séance à l'appareil de PCR en temps réel

### 1. Allumer l'ordinateur et l'appareil MDX de DiaSorin

**Note :** Si le logiciel a été ouvert avant l'appareil par erreur, cliquer en haut à gauche de l'écran pour sélectionner « Tools » puis « Find instrum »

### 2. Configurer le disque dans le logiciel :

Dans la section « Configure Runs », sélectionner l'analyse « Candida auris PCR »

- Le programme d'amplification PCR est le suivant :
  - Cycle initial:
    - Hold 2: Time 600, Temp 97, Ramp rate 2
  - Cycle principal:
    - Denaturation: Time 10, Temp 97, Ramp Rate 10
    - Anneal: Time 30, Temp 60, Ramp Rate 10
  - Cycle de Tm:
    - Display Range: Start 30, End 70
    - Savitzky-Golay Smoothing: Sample 7, Order 1
    - No target threshold: 4
    - Peak-detect threshold: 25

La séance est automatiquement identifiée avec le nom de l'analyse, la date et l'heure. Un nom peut être utilisé pour identifier la séance dans la section « RUN NAME PREFIX » (ex. PCR\_detection\_Cauris\_AAAAMMJJ).

Les échantillons et contrôles sont identifiés dans la case « ADD SAMPLE ». L'ordre des échantillons peut être modifié avec les flèches de la section « ARRANGE ».

Une fois que tous les échantillons sont identifiés dans la liste, appuyer sur « MOVE TO DISC » pour que la correspondance soit faite dans leur puits respectifs. Si une modification à la disposition des échantillons est nécessaire, cliquer sur le tableau représentant le disque avec le bouton de droite de la souris et sélectionner « EDIT SEGMENT ». Ceci aura pour effet de rebasculer les échantillons dans la liste où les modifications pourront être apportées.

Appuyer sur « SAVE » pour enregistrer le disque.

**Note :** Les disques universels sont à usage unique. Le code à barres est lu au début de la séance et après l'analyse le disque doit être jeté dans un contenant désigné. L'appareil n'acceptera pas de démarrer une nouvelle séance avec un disque déjà utilisé (car le code à barres a déjà été scanné).

### 8.3 Préparation du mélange réactionnel de la PCR

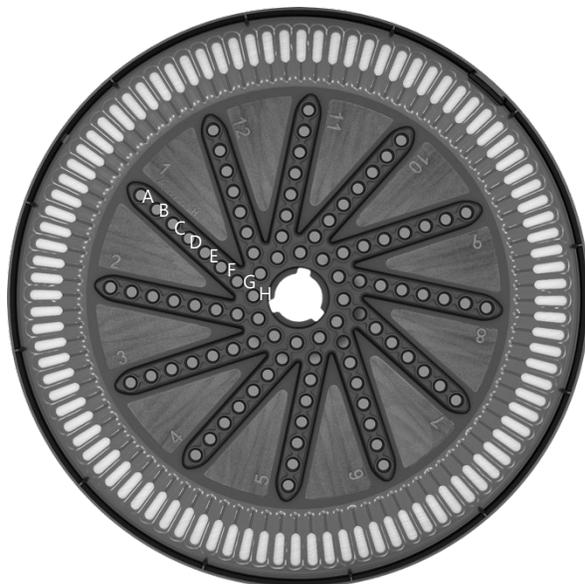
1. Dans un local de réactifs (local propre) préparer le mélange réactionnel selon les quantités suivantes ci-dessous et apporter ensuite celui-ci au local Pré-PCR :

Tableau 2 Mélange réactionnel de la PCR

Réactifs	N° lot ou date de fabrication	Date de péremption	Volume (µl) Par réaction	Volume total (µl) dans le mélange réactionnel
TA Mastermix			4	
<i>Candida auris</i> Primer Pair			0,2	
Internal control Primer Pair			0,2	
Internal control DNA			0,2	
Eau DEPC			3,4	
<b>Volume de mélange réactionnel à distribuer</b>			<b>8,0</b>	
<b>Volume d'échantillon</b>			<b>2,0</b>	

2. Dans le local pré-PCR, retirer le disque universel (Universal Disk) de son emballage et le placer sur le support bleu (à 4 °C) pour le maintenir réfrigéré;
3. Sous l'ESB, distribuer le mélange réactionnel (8 µL) dans tous les puits identifiés lors de la configuration du disque. Le puits no. 1 (A) se trouvant à l'extrémité extérieure du disque et le puits no.8 (H) à l'intérieur.

**SUITE À LA PROCHAINE PAGE**



**Note :** Mettre le disque avec un angle permettant de bien voir le ménisque du mélange réactionnel, lorsque délivré dans le puits.

Pipetter à un angle d'environ 30° pour éviter la création de bulles et s'assurer qu'un volume est visible dans l'embout avant de déposer dans le puits.

Ne pas expulser la dernière goutte afin d'éviter la production de bulle d'air. Ne pas relâcher le piston de la pipette avant la sortie du puits pour éviter la ré-aspiration du mélange.

### **Procéder de la même façon pour tous les échantillons.**

4. En prenant soin de ne pas aller piger au fond du tube, pipetter et distribuer les échantillons et contrôles (2 µL) dans leurs puits respectifs, selon l'identification du disque faite préalablement à l'aide du logiciel;
5. Sceller le disque avec le film adhésif prévu à cet effet (Universal Disc Cover Tape);
6. Changer de gants. Installer le disque dans l'appareil LIAISON MDX;
7. Dans le logiciel, appuyer sur « Start run » pour démarrer l'appareil.

## **9 ANALYSE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS**

### **9.1 Analyse des résultats de la PCR**

- Une fois la PCR de la série terminée, appuyez sur « ANALYZE »;
- Le logiciel calculera automatiquement et affichera les résultats de Ct pour la cible et le contrôle interne en fonction des courbes d'amplification obtenues;
- Appuyez sur « PRINT PREVIEW »;
- Vérifiez les graphiques d'amplification de chacun des échantillons et des contrôles;
- Vérifiez visuellement le volume dans chacun des puits du disque. Consignez si le volume semble inadéquat;
- Imprimez le rapport et exportez les résultats au besoin.

## 9.2 Interprétation et saisie des résultats au rapports

L'analyse est valide si les contrôles positifs et négatifs sont conformes aux résultats attendus.

- Si le contrôle négatif s'avère positif pour la cible (valeur Ct inférieure ou égale à 40), celui-ci est non valide, car une contamination des échantillons est possible et l'analyse de toute la série d'échantillons et de contrôles devra être répétée. Le responsable de l'analyse pourra par contre, à sa discrétion, décider de rapporter les résultats des échantillons négatifs et dans ce cas répéter l'analyse uniquement pour les échantillons positifs;
- Si le contrôle positif s'avère négatif (valeur Ct supérieure à 40 ou indiquée comme 0), celui-ci est non-valide, et toute la série d'échantillons et de contrôles devra être réanalysée. À sa discrétion et en fonction des hypothèses retenues pour expliquer l'échec du contrôle positif, le responsable de l'analyse pourra par contre décider de rapporter les résultats des échantillons positifs et dans ce cas répéter l'analyse uniquement pour les échantillons négatifs.

Le contrôle interne, ou témoin d'amplification interne (TAI), doit être détecté pour rapporter un résultat négatif, sans quoi le résultat de l'échantillon est invalide et l'analyse devra être répétée. En cas d'échec de détection du TAI il est possible de reprendre l'analyse de cet échantillon après extraction, ou subsidiairement procéder à une dilution 1:2 (ou même 1:5 au besoin) avant de répéter l'analyse. Un message devrait toutefois accompagner un résultat négatif pour *C. auris* s'il est obtenu après une dilution de l'échantillon, car la sensibilité de l'analyse pourrait avoir été réduite par cette dilution. Si le TAI n'est pas détecté lors de la ou des reprises, un résultat « invalide » sera rapporté.

Le TAI n'a pas besoin d'être positif pour rapporter un résultat positif *C. auris*.

La courbe d'amplification d'un échantillon positif doit correspondre à une cinétique exponentielle et ressembler à celles des contrôles positifs.

Voir tableau ci-après pour l'interprétation des résultats et actions à prendre.

**Tableau 3** Interprétation et action à prendre en fonction des valeurs de Ct de l'échantillon clinique

<b>C. auris ITS2 (FAM)</b>	<b>TAI (Q670)</b>	<b>Action à prendre</b>	<b>Résultat à rapporter au rapport</b>
Ct ≤ 40	Ct ≤ 40 ou Négatif	Émettre le résultat	<i>Candida auris</i> détecté <b>Commentaire à ajouter :</b> <i>C. auris</i> détecté. S'il s'agit d'un nouveau cas, veuillez aviser le LSPQ et procéder à l'isolement de la souche en culture. Celle-ci devra ensuite être envoyée au LSPQ pour test de sensibilité et typage par séquençage génomique.
Négatif	Ct ≤ 40	Émettre le résultat	<i>Candida auris</i> non détecté
Négatif	Négatif	Répéter l'analyse ou émettre après reprise	Résultat invalide <b>Commentaire à ajouter :</b> Inhibition de la PCR de détection observée. Nous faire suivre un nouvel échantillon au besoin.
Ct ≤ 40 avec courbe d'amplification atypique - non exponentielle	Ct ≤ 40	Répéter l'analyse ou émettre	Indéterminé <b>Commentaire à ajouter :</b> Nous faire suivre un nouvel échantillon au besoin.

Lorsque l'intégrité du spécimen est douteuse ou que la présence d'une quantité significative de substances inhibitrices est suspectée (valeur Ct du contrôle interne supérieure à 35), une extraction d'ADN ou encore une dilution de l'échantillon peut être effectuée à la demande du responsable de l'analyse. Tout profil d'amplification qui diffère des situations susmentionnées est évalué par le responsable de cette analyse.

Tous les rapports positifs doivent être validés par le microbiologiste-infectiologue de garde au laboratoire.

### 9.3 Valeurs d'alertes ou critiques

L'identification d'une souche de *C. auris* est une valeur épidémiologique urgente qui doit être rapportée immédiatement au microbiologiste-infectiologue de garde au laboratoire, au service de prévention et de contrôle des infections (SPCI) et à l'unité de soins concernée si le patient est hospitalisé.

## 10 LIMITES DE LA MÉTHODE

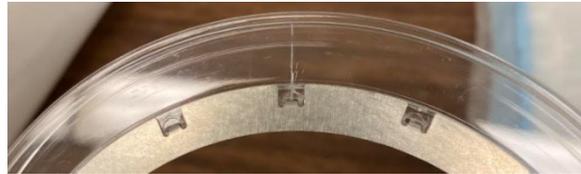
- Pour diagnostic *in vitro* uniquement;
- Trousse non homologuée. Validation locale requise;
- Des résultats faux négatifs peuvent survenir si le microorganisme est présent à une concentration inférieure à la sensibilité analytique du test ou lorsque la séquence d'ADN cible présente des mutations, des insertions, des délétions ou des réarrangements;
- Comme avec d'autres tests, des résultats faux positifs peuvent survenir. Dans certains cas, une répétition du test, parfois avec un autre appareil, peut être indiquée;
- Ce test est qualitatif et ne fournit pas de valeurs quantitatives;
- La limite de détection calculée pour ce test lors de l'évaluation du LSPQ est de 588 UFC / mL sur échantillons simulés. La sensibilité et la spécificité observées étaient respectivement de 96 % et 100 % sur un panel de 50 échantillons cliniques testés.

## 11 PRÉCAUTIONS SPÉCIALES ET SUPPLÉMENTAIRES

- Ne pas déplacer le disque de plastique transparent à l'intérieur de l'ESB où les échantillons sont pipetés. Toujours le laisser dans l'appareil sauf lors de sa décontamination;
- Pour minimiser le risque de contamination : Éliminez les disques universels après leur première utilisation, dans un sac de plastique étanche, en les jetant délicatement dans une poubelle biorisque à l'extérieur de l'ESB utilisée pour pipeter les échantillons, et jeter aussi ses gants et avec précaution : ne pas lancer les disques ou les laisser tomber.

## 12 ENTRETIEN ET CALIBRATION

- Se référer au manuel technique du thermocycleur (Integrated Cyclor) du Liaison™ MDX de DiaSorin (Réf. MOL1001);
- Nettoyage de l'intérieur de l'appareil (1 fois semaine);
  - 1<sup>ère</sup> étape : avec lingettes 10 % eau de javel fraîchement préparée;
  - 2<sup>e</sup> étape : avec isopropanol 70 % (tampons alcool) SAUF plastique transparent (eau distillée).
- Grille d'aération (1 fois semaine – au besoin);
  - Si de la poussière est présente, la souffler avec un dépoussiéreur pour produits électroniques.
- Inspecter le disque de plastique transparent : s'il est fissuré, veuillez contacter le fabricant afin de le remplacer le plus rapidement possible. Voici un exemple de disque fissuré :



La calibration de l'appareil doit être faite tous les 6 mois par DiaSorin. Les contacter pour planifier.

## RÉFÉRENCES

1. Lyman M, Forsberg K, Sexton DJ, Chow NA, Lockhart SR, Jackson BR, Chiller T. (2023) Worsening Spread of *Candida auris* in the United States, 2019 to 2021. *Ann Intern Med.* 176(4):489-495. PMID: 36940442.
2. Tracking *C. auris*. Site des CDC <https://www.cdc.gov/candida-auris/tracking-c-auris/index.html> 24 avril 2024
3. Adams E, Quinn M, Tsay S, Poirot E, Chaturvedi S, Southwick K, Greenko J, Fernandez R, Kallen A, Vallabhaneni S, Haley V, Hutton B, Blog D, Lutterloh E, Zucker H; *Candida auris* Investigation Workgroup. (2018) *Candida auris* in Healthcare Facilities, New York, USA, 2013-2017. *Emerg Infect Dis.* (10):1816-1824. PMID: 30226155.
4. *Candida auris* Primer Pair de DiaSorin Molecular (Réf. MOL9059, Rev. 01).
5. Le manuel technique du thermocycleur (Integrated cycler de LIAISON MDX™ de DiaSorin Molecular) (Réf. MOL1001).
6. Ahmed M, Sperling M, Van Benten K, Relich RF, Gavina K (2022) *C. auris* is coming! Validation of the DiaSorin LIAISON MDX Platform for the qualitative real-time PCR detection of *Candida auris* in hospital inpatients. Poster présenté à la Conférence AMP 2022 (1-5 novembre, Phoenix AZ).
7. Ramírez JD, Wang CY, Bolton D, Liggayu B, Schaefer S, Patel G, Javaid W, Cordon-Cardo C, Firpo-Betancourt A, Sordillo EM, Paniz-Mondolfi A. Molecular Detection of *Candida auris* Using DiaSorin Molecular Simplexa® Detection Kit: A Diagnostic Performance Evaluation. *J Fungi* (Basel). 2023 Aug 15;9(8):849. doi: 10.3390/jof9080849. PMID: 37623620.
8. Recommandations du CINQ : Mesures de prévention et de contrôle du *Candida auris* dans les milieux de soins (juillet 2024) <https://www.inspq.qc.ca/publications/3540>

---

# Dépistage de *Candida auris* par PCR en temps réel sur plateforme LIAISON MDX (DiaSorin)

---

## AUTEUR ET AUTRICE

Philippe Dufresne, Ph. D., spécialiste clinique en biologie  
médicale (Mycologie)

Laboratoire de santé publique du Québec

Chantal Labelle, technicienne de laboratoire médicale  
(Biologie Moléculaire)

Laboratoire de santé publique du Québec

## SOUS LA COORDINATION DE

Judith Fafard, M.D., directrice médicale

Laboratoire de santé publique du Québec

## COLLABORATION

Lyne Désautels, B.Sc., coordonnatrice (Biologie  
Moléculaire)

Laboratoire de santé publique du Québec

Jasmin Villeneuve, M.D., médecin conseil  
Direction des risques biologiques

Institut national de santé publique du Québec

Jeannot Dumaresq, M.D., microbiologiste-infectiologue  
Centre intégré de santé et des services sociaux de  
Chaudières-Appalaches

Simon-Frédéric Dufresne, M.D., microbiologiste-  
infectiologue

Centre intégré universitaire de santé et de services  
sociaux de l'Est-de-l'Île-de-Montréal

Julie Okapuu, M.D., microbiologiste-infectiologue  
Centre intégré de santé et de services sociaux de la  
Montérégie-Ouest

Anne Desjardins, M.D., microbiologiste-infectiologue  
Centre hospitalier universitaire de Québec

Matthew Cheng, M.D., microbiologiste-infectiologue  
Centre universitaire de santé McGill

Valérie Roy, M.D., microbiologiste-infectiologue  
Centre intégré de santé et des services sociaux de  
Chaudières-Appalaches

## RÉVISION

Catherine Allard, M.D., microbiologiste-infectiologue  
Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke

Caroline Sheitoyan-Pesant, M.D., microbiologiste  
infectiologue

Centre hospitalier universitaire Dr-George-L. Dumont  
Moncton, Nouveau-Brunswick

Les réviseuses ont été conviées à apporter des  
commentaires sur la version pré-finale de ce  
document et en conséquence, n'en ont pas révisé  
ni endossé le contenu final.

Les auteur(e)s ainsi que les membres du comité  
scientifique et les réviseuses ont dûment rempli  
leurs déclarations d'intérêts et aucune situation à  
risque de conflits d'intérêts réels, apparents ou  
potentiels n'a été relevée.

## MISE EN PAGE

Teresa Alper, agente administrative  
Laboratoire de santé publique du Québec

*Ce document est disponible intégralement en format  
électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé  
publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.*

*Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont  
autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur.  
Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du  
gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de  
propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut  
être obtenue ou en écrivant un courriel à :  
[droits.dauteur.inspq@inspq.qc.ca](mailto:droits.dauteur.inspq@inspq.qc.ca).*

*Les données contenues dans le document peuvent être citées, à  
condition d'en mentionner la source.*

Dépôt légal – 3<sup>e</sup> trimestre 2024  
Bibliothèque et Archives nationales du Québec  
ISBN : 978-2-550-98520-4 (PDF)

© Gouvernement du Québec (2024)

N° de publication : 3542