

# ELIchrom *glabrata*

Test rapide d'identification de *Candida glabrata*

40 tests  
(Réf. 44506)

8000050-fr-2012-05

## 1 - BUT

ELIchrom *glabrata* est un test rapide (20 minutes) et unitaire pour l'identification rapide des colonies de *Candida glabrata*.

Un coffret permet de réaliser 40 tests.

## 2 - INTRODUCTION

Les levures du genre *Candida* peuvent être à l'origine de candidoses cutanées, de candidoses muqueuses, de candidémies ou de candidoses invasives.

Les *Candida* sont des levures habituellement commensales des muqueuses digestives et urogénitales. Elles ne deviennent pathogènes que lorsque des conditions favorables se présentent dans l'organisme hôte. Parmi les facteurs favorisant l'infection candidosique, on distingue des facteurs intrinsèques physiologiques ou pathologiques (âges extrêmes de la vie, grossesse, diabète, déficits immunitaires et maladies malignes) et des facteurs extrinsèques qui sont essentiellement de nature iatrogène. La prévalence des candidoses a considérablement augmenté au cours des vingt dernières années, par suite de l'émergence de pathologies comme le SIDA, de la généralisation des traitements antibiotiques et des contraceptifs oraux, du développement des thérapeutiques immunosuppressives, de l'alimentation parentérale, de la multiplication des méthodes d'investigations agressives et des interventions chirurgicales. A titre d'exemple, les candidémies représentent environ 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, ce pourcentage pouvant même atteindre 20 % selon certaines études. En outre, leur pronostic reste très sombre, la mortalité oscillant chez les patients fongémiques entre 38 et 50 %.

*C. albicans* est l'espèce la plus souvent isolée. Elle représente 60 à 80 % des isolats cliniques. Toutefois, d'autres espèces telles que *C. dubliniensis*, une espèce très proche de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. lipolytica*, sont de plus en plus fréquemment signalées comme agents de mycoses.

*C. glabrata* représente selon les études 5 à 25 % des isollements de levures en mycologie médicale. En terme de fréquence, cette levure est actuellement la deuxième espèce rencontrée chez l'Homme. Son caractère pathogène n'est plus contesté aujourd'hui dans la mesure où elle est responsable de 10 à 25 % des candidémies. Par ailleurs, *C. glabrata* présente généralement une moindre sensibilité aux dérivés azolés, et certains isolats provenant de patients traités par du fluconazole ou du kétoconazole apparaissent même d'emblée résistants à la quasi-totalité des dérivés azolés.

L'isolement et l'identification rapide de *C. glabrata* est donc indispensable à la mise en route d'une thérapeutique appropriée. Classiquement, cette identification est réalisée à l'aide des tests biochimiques, auxanogramme du carbone (étude de l'assimilation des oses comme source de carbone et d'énergie) et zymogramme (étude de l'utilisation des oses en anaérobiose), qui nécessitent un délai de réponse assez long, de 24 à 48 heures.

*C. glabrata* peut être identifié plus rapidement avec des systèmes, basés sur la détection d'enzymes préformées, qui utilisent des substrats chromogènes ou basés sur l'assimilation du tréhalose. ELIchrom *glabrata* est un test rapide d'identification de *C. glabrata*, basé sur la mise en évidence de cette enzyme.

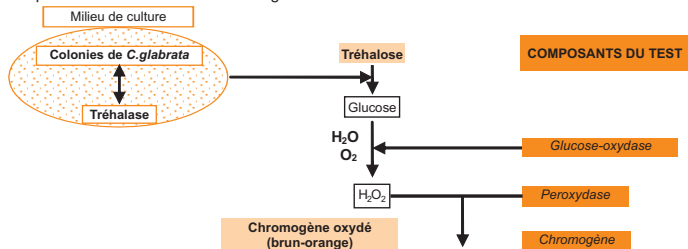
## 3 - PRINCIPE

Parmi les levures d'intérêt médical, *C. glabrata* peut, dans certaines conditions, hydrolyser très rapidement le tréhalose en glucose. La révélation de cette production de glucose permet alors l'identification de la levure. Cependant, en plus du test tréhalose, deux témoins doivent être réalisés :

- un témoin maltose car certains isolats de *C. tropicalis* peuvent aussi dégrader le tréhalose mais contrairement à *C. glabrata*, ils assimilent le maltose.
- un témoin en absence d'ose (témoin milieu de base du réactif) car les milieux d'isolement contiennent du glucose et un mauvais prélèvement des colonies, qui contiendrait de la gélose, pourrait conduire à une réaction faussement positive.

L'ELIchrom *glabrata* permet la réalisation d'un test en trois étapes pour l'identification de *C. glabrata* :

1. Préparation d'une suspension de levures en eau distillée.
2. Incubation de la suspension de levures avec le tréhalose ou le maltose (témoin levure) ou le milieu de base (témoin milieu d'isolement).
3. Révélation du glucose par le révélateur qui est un mélange de glucose-oxydase, de peroxydase et de substrat chromogène.



## 4 - REACTIFS ET MATERIEL

Description	Quantité
REAG : flacon de réactif lyophilisé (à reconstituer avec 1,3mL d'eau distillée stérile)	3
TEST CARD : Cartes de 12 cupules soit 4 identifications les cupules T contiennent un milieu de base et du tréhalose les cupules M contiennent un milieu de base et du maltose les cupules B contiennent un milieu de base	10

## 5 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

- L'ELIchrom *glabrata* est destiné uniquement à un diagnostic *in vitro* et doit être manipulé par des personnes habilitées. Les tests sont à usage unique.
- Vérifier que les milieux déshydratés ne sont pas altérés (présence d'une tache bleue dans toutes les cupules).
- Les prélèvements sont potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.
- Bien attendre que les réactifs s'équilibrent à température ambiante.

## - TEST CARD : T : Toxique.

- Contient du Chloramphénicol.
- R45 : Peut provoquer le cancer.
- S45 : En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
- S53 : Eviter l'exposition - se procurer des instructions spéciales avant l'utilisation.



T

## - REAG : T : Toxique.

- Contient de la glucose-oxydase et du 3,3-diméthoxybenzidine dihydrochloride.
- R22 : Nocif en cas d'ingestion.
- R42 : Peut entraîner une sensibilisation par inhalation.
- R45 : Peut provoquer le cancer.
- S22 : Ne pas respirer les poussières.
- S45 : En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
- S53 : Eviter l'exposition - Se procurer des instructions spéciales avant l'utilisation.



T

## 6 - RECUEIL DES PRELEVEMENTS

ELIchrom *glabrata* peut être réalisé sur des levures isolées après culture à +37°C ou +22°C pendant 24 à 96 heures sur les milieux de Sabouraud et sur les milieux chromogènes pour *Candida*.

## 7 - CONSERVATION ET PREPARATION DES REACTIFS

Conserver les TEST CARD ainsi que le réactif REAG (lyophilisé ou reconstitué) à 2-8°C et à l'abri de la lumière.

Après reconstitution, le réactif REAG est stable 2 mois à 2-8°C.

La durée de conservation du réactif REAG reconstitué peut être prolongée jusqu'à 6 mois en le congelant (-20°C) sous forme d'aliqots de 75 µL (dans des microtubes qui seront soigneusement bouchés), immédiatement après reconstitution. Le réactif REAG décongelé ne peut être recongelé.

## 8 - MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Pipette(s) automatique(s) au volume de pipetage adapté à la quantité à mesurer
- Tubes à hémolyse - Eau distillée stérile
- Récipient pour déchets contaminés - Pipette Pasteur ou ôse

## 9 - MODE OPERATOIRE

Equilibrer les réactifs à température ambiante avant l'emploi.

### 1 Reconstitution du réactif REAG :

- Ouvrir le réactif REAG avec précaution (flacon sous vide).
- Ajouter 1,3 mL d'eau distillée stérile dans le flacon et agiter doucement.

### 2 Réalisation du test :

- Sortir 1 ou plusieurs TEST CARD en fonction du nombre de levures à étudier (Pour une levure, découper une carte de façon à avoir les 3 cupules T, M et B).
- Identifier un tube à hémolyse et ajouter 100 µL d'eau distillée stérile.
- Prélèver avec précaution des colonies de la levure à identifier et les homogénéiser dans les 100 µL d'eau distillée de manière à avoir une suspension de densité équivalente au point 5 de la gamme de Mc Farland (3 à 4 colonies si la culture a été réalisée sur milieu de Sabouraud et 3 à 8 selon la taille des colonies si la culture a été réalisée sur un milieu chromogénique).
- Déposer, à l'aide d'une micropipette, 25 µL de la suspension de levures préparée sur chacune des taches bleues T, M et B.
- Laisser incubé 10 minutes à température ambiante (un prolongement du temps d'incubation de 10 minutes n'a pas d'influence sur le résultat final).
- Ajouter 25 µL de réactif REAG à l'aide d'une micropipette, dans chacune des cupules T, M et B.
- Laisser incubé 5 à 10 minutes à température ambiante.
- Effectuer la lecture.

**IMPORTANT :** Si la lecture doit être différée, la réaction sera bloquée en ajoutant dans chaque cupule 25 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 M). Pour une réaction positive, la coloration devient alors marron/gris puis fuchsia et dans le cas d'une réaction négative, on observe une coloration légèrement bleutée.

## 10 - LECTURE

**Réaction positive :** Apparition d'une coloration orange plus ou moins foncée

**Réaction négative :** Absence de coloration

## 11 - INTERPRETATION DES RESULTATS

RESULTATS			CONCLUSION
CUPULE T (Tréhalose)	CUPULE M (Maltose)	CUPULE B (Milieu de Base)	
Positif	Négatif	Négatif	<i>C. glabrata</i> .
Négatif	Négatif	Négatif	Levure non <i>C. glabrata</i> . Poursuivre l'identification.
Positif	Positif	Négatif	Levure non <i>C. glabrata</i> . Poursuivre l'identification.
Négatif	Positif	Négatif	Levure non <i>C. glabrata</i> . Poursuivre l'identification.
Positif	Positif	Positif	Non interprétable. Recommencer les tests en prélevant avec précaution les colonies de levures sans prélever de gélose.

## 12 - CAUSES D'ERREURS ET LIMITES DU TEST

**Ne pas prélever de gélose en même temps que les colonies** car cela peut entraîner un résultats non interprétable.

Dans tous les cas, il est nécessaire d'intégrer l'ensemble des données cliniques, épidémiologiques et biologiques avant d'établir le diagnostic final.

## 13 - PERFORMANCES

Les résultats des évaluations de l'ELIchrom *glabrata* montrent, selon les milieux d'isolement utilisés, **une sensibilité de 93,8 à 97,9%** (97,9% pour les milieux Candida ID, CandiSelect, et Sabouraud et 93,8% pour le milieu CHROMagar candida) et **une spécificité de 97,6 à 98,8%** (98,8% pour les milieux Sabouraud et CHROMagar candida, 98% pour le milieu Candida ID et 97,6% pour le milieu CandiSelect). (Raymond Robert - Laboratoire de Parasitologie/Mycologie, Faculté de Pharmacie, 49100 Angers et Anne-Marie Freydière - Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Debrousse, Hospices Civils de Lyon, 69322 Lyon).

## 14 - ELIMINATION DES DECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de produit dans le pays d'utilisation.

En cas de versement accidentel de réactif ou en cas de contamination de l'environnement par les levures, nettoyer à l'aide d'eau de Javel et de papier absorbant.

## 15 - BIBLIOGRAPHIE

1. Abi-said D., Anaissie E., Uzun O., Raad L., Pinzcowski H., and Vartivarian S. 1997. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin. Infect. Dis.* 24:1122-1128.
2. Bouchara J., P., Declerck P., Cimon B., Planchenault C., de Gentile L., Chabasse D. 1996. Routine use of CHROMagar Candida medium for presumptive identification of *Candida* yeast species and detection of mixed fungal populations. *Clin Microbiol Infect* 2:202-208
3. Fenn J. P., Milletdeux E., Segal H., Skodack-Jones L., Padilla PE., Bale M., Carroll K. 1999. Comparison of four methodologies for rapid and cost-effective identification of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol.* 37:3387-9.
4. Fidel P. L., Vazquez J. A., Sobel J. D. 1999. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev.* 12:80-96.
5. Freydiere A. M., Guinet R., and Boiron P. 2001. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med. Mycol.* 39:9-33.
6. Lopez J., Dalle F., Mantel P., Moiroux P., Nierlich A. C., Pacot A., Cuisenier B., Vagner O., and Bonnin A. 2001. Rapid identification of *Candida glabrata* based on trehalose and sucrose assimilation using Rosco diagnostic tablets. *J. Clin. Microbiol.* 39:1172-1174.
7. Parant F., Freydiere A. M., Gille Y., Boiron P., and Odds F. C. 2001. A 'one minute' trehalase detection test for the identification of *Candida glabrata*. *J. Mycol. Med.* 11:26-31
8. Petroche-Lacsahuanga H., Schnitzler N., Lütticken R., Haase G. 1999. Rapid identification of *Candida glabrata* by using a Dipstick to detect trehalase-generated glucose. *J Clin Microbiol.* 37:202-5.
9. Pfaller M. A., Diekema D. J., Jones R. N., sader H. S., Fluit A., C., Hollis R., J., Messer S., A. 2001. International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and *in vitro* susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin. Microbiol.* 39:3254-9.
10. Pfaller M. A., Messer S. A., Hollis R. J., Jones R. N., Doern G. V., Brandt M. E., and Hajjeh R. A. 1999. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United States. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 33:217-222.
11. Senet J-M., Robert R. 1995. Physiopathology of candidosis. *J. Mycol. Med.* 5:145-166.
12. Freydiere A-M., Robert R., Ploton C., Marot-Leblond A., Monereau F., Vandenesch F. 2003 Aug. Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, GLABRATA RTT. *J Clin Microbiol.* 41(8): 3861-3.
13. Freydiere A-M., Perry J-D., Faure O., Willinger B., Tortorano A-M., Nicholson A., Peman J., Verweij P-E. 2004 Oct. Routine use of a commercial test, GLABRATA RTT, for rapid identification of *Candida glabrata* in six laboratories. *J Clin Microbiol.* 42(10): 4870-2.
14. Peman J., Aparisi N., Garcia-Esteban C., Gobernado M., 2004 Jun. Rapid identification of *Candida glabrata* using a new commercial kit Rev Iberoam *Micol.* 21(2): 82-4.
15. Willinger B., Wein S., Hirschl A-M., Rotter M-L., Manafi M. 2005 Jan. Comparison of a new commercial test, GLABRATA RTT, with a dipstick test for rapid identification of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol.* 43(1): 499-501.



**ELITech MICROBIO**  
Parc d'Activités du Plateau  
19 Allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
☎ : 04 94 88 55 00  
☎ : 04 94 88 55 22

# Elichrom *glabrata*

## Rapid test for identification of *Candida glabrata*

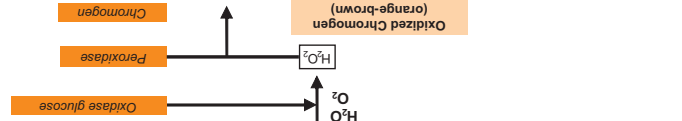
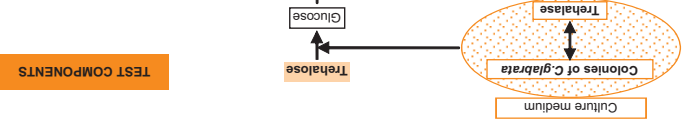
40 tests  
(Ref. 44506)

**8000050-en-2012-05** **1 - Elichrom**  
*Elichrom glabrata* is a fast unitary test (20 minutes) for the rapid identification of *Candida glabrata* colonies. Each kit allows 40 tests to be carried out.

### 2 - INTRODUCTION

Yeast of the genus *Candida* can be responsible for cutaneous candidiasis, mucosal candidiasis, and candidiasis or invasive candidiasis. *Candida* infection, there are intrinsic physiological factors or pathologies (advanced age, pregnancy, diabetes, immunological deficiencies and malignant diseases). As for extrinsic factors, these are primarily iatrogenic in nature. The prevalence of candidiasis have increased considerably over the last twenty years, as a consequence of the emergence of pathologies such as AIDS, the generalization of antibiotic treatments and oral contraceptives, the development of therapeutic immunosuppressive agents, parenteral alimentation, and the multiplication of aggressive investigative methods and surgical procedures. For example, the candidemias account for approximately 10% of nosocomial infections; a percentage that can reach 20% according to certain studies. Moreover, the prognosis for the candidiasis is poor, with mortality in affected patients oscillating between 38 and 50%. *C. albicans* is the species that is most often isolated. It accounts for 60 to 80% of clinical isolates. However, other species such as *C. dubliniensis* (a species very close to *C. albicans*), *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, and *C. lipolytica*, are increasingly being reported as mycotic organisms. Studies show that *C. glabrata* is implicated in between 5 and 25% of all cases of yeasts isolated in medical mycology. This species is the second most commonly encountered yeast in humans. Its pathogenic nature is no longer disputed, with *C. glabrata* responsible for 10 to 25% of all the candidemias. In addition, *C. glabrata* is generally less sensitive to azole derivatives, with certain isolates from patients treated with fluconazole or ketoconazole appearing to be resistant to virtually all the azole derivatives. The isolation and rapid identification of *C. glabrata* is thus essential to the choice of therapeutic regimen. Traditionally, biochemical tests are used in the identification of *C. glabrata*. The disadvantage of the carbon auxanogram (study of the assimilation of monosaccharides as a source of carbon and energy) and the zymogram (study of the use of monosaccharides in anaerobiosis), is that there is a long 24 to 48 hours wait before the tests can be read. *C. glabrata* can be identified more quickly with systems that are based upon the detection of performed enzymes that use chromogenic substrates or alternatively, that are based upon the assimilation of trehalose. **Elichrom *glabrata*** is a rapid *C. glabrata* identification test based upon

3. Detection of the presence of glucose by a revelator, which contains oxidase glucose, peroxidase and a chromogenic substrate.
2. Incubation of the yeast suspension with the trehalose (yeast control) or the base medium (isolation medium control).
1. Preparation of a distilled water yeast suspension.



**3 - PRINCIPLE**  
 Of the yeast of medical interest, *C. glabrata* is able, under certain conditions, to rapidly hydrolyse trehalose into glucose. The detection of glucose production can therefore be used to positively identify this species. However, in addition to the trehalose test, two controls must also be carried out: a trehalose control is necessary because certain *C. tropicalis* isolates can also degrade trehalose, but unlike *C. glabrata* they also assimilate maltose. A maltose control is necessary because of the presence of monosaccharide (reagent base medium control). This is not taken when taking colonies, there could be a risk that the sample is contaminated with agar, which could lead to a false positive reaction. **Elichrom *glabrata*** enables the identification of *C. glabrata* in three stages:

1. Preparation of a distilled water yeast suspension.  
 2. Incubation of the yeast suspension with the trehalose (yeast control) or the base medium (isolation medium control).  
 3. Detection of the presence of glucose by a revelator, which contains oxidase glucose, peroxidase and a chromogenic substrate.

Read the test results.  
 Incubate the test for 5 to 10 minutes at room temperature.  
 With a micropipette add 25 µl of the REAG reagent to each of the T, M and B wells.  
 Leave the test to incubate for 10 minutes at room temperature (prolongation of the incubation time beyond 10 minutes will not influence in any way the final result).  
 With a micropipette add 25 µl of the REAG reagent to each of the T, M and B wells.

Remove the number of TEST CARDS required according to the number of yeast samples to be tested (in the case of single yeast, cut the card so that there is a T, M and B well present).  
 Label a haemolytic tube and add 100 µl of sterile distilled water to it.  
 Take great care when harvesting yeast colonies to be identified in the test to avoid contamination. Homogenize the colonies in 100 µl of distilled water in order that the density of the suspension is equivalent to point 5 in the McFarland range (3 to 4 colonies if the culture has been carried out on Sabouraud medium and 3 to 8 colonies, according to the size of the colonies, if the culture has been carried out on a chromogenic medium).

With a micropipette add 25 µl of the prepared yeast suspension to each blue spot in the T, M and B wells.  
 Leave the test to incubate for 10 minutes at room temperature (prolongation of the incubation time beyond 10 minutes will not influence in any way the final result).  
 With a micropipette add 25 µl of the REAG reagent to each of the T, M and B wells.  
 Read the test results.

Remove the number of TEST CARDS required according to the number of yeast samples to be tested (in the case of single yeast, cut the card so that there is a T, M and B well present).  
 Label a haemolytic tube and add 100 µl of sterile distilled water to it.  
 Take great care when harvesting yeast colonies to be identified in the test to avoid contamination. Homogenize the colonies in 100 µl of distilled water in order that the density of the suspension is equivalent to point 5 in the McFarland range (3 to 4 colonies if the culture has been carried out on Sabouraud medium and 3 to 8 colonies, according to the size of the colonies, if the culture has been carried out on a chromogenic medium).

With a micropipette add 25 µl of the prepared yeast suspension to each blue spot in the T, M and B wells.  
 Leave the test to incubate for 10 minutes at room temperature (prolongation of the incubation time beyond 10 minutes will not influence in any way the final result).  
 With a micropipette add 25 µl of the REAG reagent to each of the T, M and B wells.  
 Read the test results.

Remove the number of TEST CARDS required according to the number of yeast samples to be tested (in the case of single yeast, cut the card so that there is a T, M and B well present).  
 Label a haemolytic tube and add 100 µl of sterile distilled water to it.  
 Take great care when harvesting yeast colonies to be identified in the test to avoid contamination. Homogenize the colonies in 100 µl of distilled water in order that the density of the suspension is equivalent to point 5 in the McFarland range (3 to 4 colonies if the culture has been carried out on Sabouraud medium and 3 to 8 colonies, according to the size of the colonies, if the culture has been carried out on a chromogenic medium).

With a micropipette add 25 µl of the prepared yeast suspension to each blue spot in the T, M and B wells.  
 Leave the test to incubate for 10 minutes at room temperature (prolongation of the incubation time beyond 10 minutes will not influence in any way the final result).  
 With a micropipette add 25 µl of the REAG reagent to each of the T, M and B wells.  
 Read the test results.

Remove the number of TEST CARDS required according to the number of yeast samples to be tested (in the case of single yeast, cut the card so that there is a T, M and B well present).  
 Label a haemolytic tube and add 100 µl of sterile distilled water to it.  
 Take great care when harvesting yeast colonies to be identified in the test to avoid contamination. Homogenize the colonies in 100 µl of distilled water in order that the density of the suspension is equivalent to point 5 in the McFarland range (3 to 4 colonies if the culture has been carried out on Sabouraud medium and 3 to 8 colonies, according to the size of the colonies, if the culture has been carried out on a chromogenic medium).

With a micropipette add 25 µl of the prepared yeast suspension to each blue spot in the T, M and B wells.  
 Leave the test to incubate for 10 minutes at room temperature (prolongation of the incubation time beyond 10 minutes will not influence in any way the final result).  
 With a micropipette add 25 µl of the REAG reagent to each of the T, M and B wells.  
 Read the test results.

Remove the number of TEST CARDS required according to the number of yeast samples to be tested (in the case of single yeast, cut the card so that there is a T, M and B well present).  
 Label a haemolytic tube and add 100 µl of sterile distilled water to it.  
 Take great care when harvesting yeast colonies to be identified in the test to avoid contamination. Homogenize the colonies in 100 µl of distilled water in order that the density of the suspension is equivalent to point 5 in the McFarland range (3 to 4 colonies if the culture has been carried out on Sabouraud medium and 3 to 8 colonies, according to the size of the colonies, if the culture has been carried out on a chromogenic medium).

### 4 - REAGENTS AND MATERIAL

Quantity	Description
3	REAG : vial of lyophilized reagent (to be reconstituted with 1,3 ml of sterile distilled water)
10	TEST CARD : Test cards containing 12 wells, 4 of which are for identification
	-T wells contain base medium and trehalose
	-M wells contain base medium and maltose
	-B wells contain base medium

### 5 - PRECAUTIONS

- The reagents are intended for *in vitro* diagnostic use only and must be handled by authorized personnel. Tests are for a single use only.
- Ensure that the dehydrated media are not altered in any way (the presence of a blue stain in all wells). Patient samples are potentially infectious: they must be handled with caution, in observance of hygiene rules and the current regulations for this type of product in the country of use.
- Do not use the reagents after the expiry date.
- Do not use reagents from different batch numbers.
- Prior to use, allow the reagents to reach room temperature.

### TEST CARD :

- T : Toxic : Contains chloroformenicol.
- R45: May cause cancer.
- S45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).

### REAG :

- T : Toxic : Contains oxidase glucose and 3,3-dimethoxybenzidine dihydrochloride.
- S53: Avoid exposure - obtain special instructions before use.
- S45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).
- S45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).
- S53: Avoid exposure - obtain special instructions before use.

- R45: May cause cancer.
- R42: Harmful if swallowed.
- R22: Harmful to aquatic life.
- R42: May cause sensitisation by inhalation.
- S22: Do not breathe dust.
- S45: In case of accident or if you feel unwell, seek medical advice immediately (show the label where possible).
- S53: Avoid exposure - obtain special instructions before use.

### 6 - SAMPLE COLLECTION

- **Elichrom *glabrata*** can be carried out on yeast isolated from a 24-96 h culture at +37°C or +22°C (Sabouraud media or *Candida* chromogenic media).
- **7 - STABILITY, STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS**  
 Preserve the TEST CARD as well as the REAG reagent (lyophilized or reconstituted) at 2-8°C and away from the light.  
 After reconstitution, REAG reagent is stable for 2 months at 2-8°C.  
 The shelf-life of the reconstituted REAG reagent can be extended for up to 6 months by freezing (-20°C) 75 µl aliquots (in microtubes with well closed stoppers) immediately after reconstitution. Defrosted REAG reagent cannot be re-frozen.
- **8 - MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED**  
 Automatic pipette(s) with a pipetting volume adapted to the volume that will be measured.  
 Haemolysis tubes  
 Sterile distilled water
- **9 - METHOD**  
 Allow the reagents to reach room temperature before use.

### 1 RECOGNITION OF THE REAG REAGENT:

- Open the REAG reagent with precaution (vial under negative pressure).
- Add 1,3 ml of sterile distilled water to the vial and shake gently.

### 2 Realization of the test:

- Remove the number of TEST CARDS required according to the number of yeast samples to be tested (in the case of single yeast, cut the card so that there is a T, M and B well present).
- Label a haemolytic tube and add 100 µl of sterile distilled water to it.
- Take great care when harvesting yeast colonies to be identified in the test to avoid contamination. Homogenize the colonies in 100 µl of distilled water in order that the density of the suspension is equivalent to point 5 in the McFarland range (3 to 4 colonies if the culture has been carried out on Sabouraud medium and 3 to 8 colonies, according to the size of the colonies, if the culture has been carried out on a chromogenic medium).
- With a micropipette add 25 µl of the prepared yeast suspension to each blue spot in the T, M and B wells.
- Leave the test to incubate for 10 minutes at room temperature (prolongation of the incubation time beyond 10 minutes will not influence in any way the final result).
- With a micropipette add 25 µl of the REAG reagent to each of the T, M and B wells.
- Incubate the test for 5 to 10 minutes at room temperature.
- Read the test results.

**10 - READING**  
**Positive reaction:** Appearance of a more or less dark orange coloration  
**Negative reaction:** Absence of any coloration

### 11 - INTERPRETATION OF RESULTS

CONCLUSION	RESULTS	
	WELL B (Base medium)	WELL M (Maltose)
Positive	Negative	Negative
Negative	Negative	Negative
Positive	Positive	Negative
Negative	Positive	Negative
Positive	Positive	Positive
Negative	Negative	Positive
Non <i>C. glabrata</i> yeast: Continue the identification.	Negative	Negative
Non <i>C. glabrata</i> yeast: Continue the identification.	Negative	Positive
Non <i>C. glabrata</i> yeast: Continue the identification.	Positive	Positive
Non interpretable: Repeat the tests by carefully sampling the yeast without moving the agar.	Positive	Positive

### 12 - CAUSES OF ERROR AND TEST LIMITS

**Do not remove agar at the same time as the colonies as this can lead to uninterpretable results.**  
 In all cases, it is necessary that the clinical, epidemiologic and biological data are taken fully into consideration before establishing the final diagnosis.

### 13 - PERFORMANCE

The evaluation results for **Elichrom *glabrata*** demonstrate, depending upon the isolation medium used, a sensitivity from 93.8 to 97.9% (97.9% for the Candida ID, CandidSelect, and Sabouraud media and 93.8% for the CHROMAgar candida medium) and a specificity from 97.6 to 98.8% (98.8% for the Sabouraud and CHROMAgar candida media, 98% for the Candida ID medium and 97.6% for the CandidSelect medium). (Raymond Robert - Laboratoire de Parasitologie/Mycologie, Faculté de Pharmacie, 49100 Angers and Anne-Marie Freyrière - Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Debrousse, Hospices Civils de Lyon, 69322 Lyon).

**14 - WASTE ELIMINATION**  
 Waste should be disposed of in accordance with the hygiene rules and current regulations for this kind of product in the country of use. If the reagent is spilled or the work area is contaminated by yeast, clean using bleach and absorbent paper.

**15 - BIOLOGRAPHY**  
 1. Ablesse D., Anassiss E., Uzun O., Raad L., Pinzcowski H., and Vartvaran S. 1997. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin. Infect. Dis.* 24:1122-1128.

2. Bouchard J.-P., Declercq P., Cimion B., Planchenault C., de Gentille L., Chabassas D. 1996. Routine use of CHROMAgar fungal identification medium for presumptive identification of *Candida* yeast species and detection of mixed fungal populations. *Clin Microbiol Infect* 2:202-208

3. Fern J. P., Billietdoux E., Segal H., Skodack-Jones L., Padilla P.E., Bale M., Carroll K. 1999. Comparison of four methods for rapid and cost-effective identification of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol*, 37:3387-9.

4. Fidel P. L., Yazquez J. A., Sobel J. D. 1999. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical diseases with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev*, 12:80-96.

5. Freyrière A. M., Guinet R., and Botton P. 2001. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypic methods. *Med. Mycol*, 39:9-33.

6. Lopez J., Dale F., Mantelin P., Moroux P., Nerlich A. C., Pacot A., Cuisinier B., Vagner O., and Bonnin A. 2001. Rapid identification of *Candida glabrata* based on trehalose and sucrose assimilation using Rosco diagnostic tablets. *J Clin Microbiol* 39:1172-1174.

7. Parant F., Freyrière A. M., Gille Y., Botton P., and Ouds F. C. 2001. A one minute trehalase detection test for the identification of *Candida glabrata*. *J. Mycol. Med.* 11:26-31

8. Petroch-Lascasahuana H., Schmitzler N., Lüticken R., Haase G. 1999. Rapid identification of *Candida glabrata* by using a direct trehalase-generated glucose. *J Clin Microbiol*, 37:202-5.

9. Falser M. A., Diekema D. J., Jones R. N., Sader H. J., Furt A. C., Hollis R. J., Messer S. A. 2001. International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin. Microbiol*, 39:3254-9.

10. Falser M. A., Messer S. A., Hollis R. J., Jones R. N., Doern G. V., Brandt R. E., and Hejblum R. A. 1999. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United States. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 33:217-222.

11. Senet J.-M., Robert R. 1995. Physiopathology of candidosis. *J. Mycol. Med.* 5:145-166.

12. Freyrière A.-M., Robert R., Ploton C., Marot-Leblond A., Monnerau F., Vandansch F. 2003 Aug. Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test. *GLABRATA RTT. J Clin Microbiol*, 41(8) : 3861-3.

13. Freyrière A.-M., Perry J.-D., Faure O., Willinger B., Tororano A.-M., Nicholson A., Peman J., Verweil P.-E. 2004 Oct. Routine use of a commercial test, GLABRATA RTT, for rapid identification of *Candida glabrata* in six laboratories. *J Clin Microbiol*, 42(10) : 4870-2.

14. Peman J., Aparisi N., Garcia-Esteban A., Gobernado M., 2004 Jun. Rapid identification of *Candida glabrata* using a new commercial kit. *Rev Iberoam Micro*, 21(2) : 82-4.

15. Willinger B., Wehn S., Hirsch A.-M., Rötter M.-H., Manahl M. 2005 Jan. Comparison of a new commercial test, GLABRATA RTT, with a dipstick test for rapid identification of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol*, 43(1) : 499-501.

**ELTech MICROBIO**  
 Parc d'Activités du Plateau  
 19 Allée d'Athènes  
 83870 SIGNES  
 FRANCE  
 Fax : 04 94 88 55 22  
 : 04 94 88 55 00