

ELIchrom *glabrata*

Test rapide d'identification de *Candida glabrata*

40 Tests

(Réf. 44506)

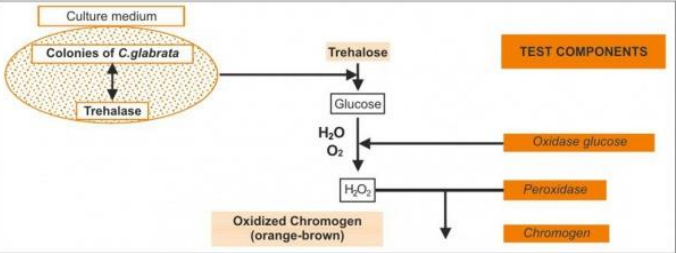
8000050-FR-2025-01
Pour diagnostic *in vitro* uniquement, pour usage professionnel seulement.
Test à usage unique.

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 thérapéutiques 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 isoléments de levures en mycologie médicale. En termes 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, au programme 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.

- ELIchrom *glabrata*** permet la réalisation d'un test en trois étapes pour l'identification de *C. glabrata* :
- Préparation d'une suspension de levures en eau distillée.
 - Incubation de la suspension de levures avec le tréhalose ou le maltose (témoin levure) ou le milieu de base (témoin milieu d'isolement).
 - Révélation du glucose par le révélateur qui est un mélange de glucose-oxydase, de la peroxydase et de substrat chromogène.



Description	Quantité
REAG: Flacon de réactif lyophilisé (à reconstituer avec 1,3 mL 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**
- 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.

REAG: Contient de la glucose-oxydase et du 3,3-diméthoxybenzidine-dihydrochloride.
- H334: Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.
- H350: Peut provoquer le cancer.

- P201: Se procurer les instructions avant l'utilisation.
- P261: Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
- P280: Porter des gants/vêtements/équipement de protection des yeux/visage.
- P304+P340: EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer.
- P342+P311: En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- P308+P313: EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.



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'aliquots 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
 - Récepteur pour déchets contaminés
 - Eau distillée stérile
 - Pipette Pasteur ou ôse

- 9 - MODE OPERATOIRE**
Equilibrer les réactifs à température ambiante avant l'emploi.
- 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.
 - 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.
 - Prélever 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 incuber 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 incuber 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 H₂SO₄ (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

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 résultat 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

- Abi-said D., Anaissie E., Uzun O., Raad L., Pinzowski H., and Vartivarian S. 1997. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin. Infect. Dis.* 24:1122-1128.
- 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
- Fenn J. P., Billedeux 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.
- 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.
- Freydière A. M., Guinet R., and Boiron P. 2001. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypic methods. *Med. Mycol.* 39:9-33.
- Lopez J., Dalle F., Mantelin 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.
- Parant F., Freydière 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
- Peltroche-Liacsahuanga 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.
- 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.
- 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.
- Senet J-M., Robert R. 1995. Physiopathology of candidosis. *J. Mycol. Med.* 5:145-166.
- Freydière A-M., Robert R., Ploton C., Marot-Leblond A., Monereau F., Vandenesse F. 2003 Aug. Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, GLABRATA RTT. *J Clin Microbiol.* 41(8) : 3861-3.
- Freydière 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.
- 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.
- 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.

Les modifications par rapport à la version précédente sont surlignées en gris.