

NOTES ET INFORMATIONS

TECHNIQUE SIMPLIFIEE POUR L'IDENTIFICATION DES LEVURES DU GENRE *CANDIDA*

J. DESPEIGNES et M.-R. BATESTI

*(Travail effectué au Laboratoire de Parasitologie
de la Faculté de Médecine de Lyon, P^r Coudert)*

Résumé

Cette technique permet d'apprécier l'acidification et le dégagement gazeux dans un milieu gélosé.

Le matériel comprend : un milieu de base (gélose à 9 ‰ additionnée de chloramphénicol et de bromocrésol pourpre), des disques de papier buvard imprégnés de diverses solutions sucrées, séchés et tyndallisés.

La technique consiste à répartir dans des tubes à hémolyse les disques de sucre, puis quelques gouttes d'une émulsion riche de levure et enfin 2 ml de milieu liquéfié.

Après vingt-quatre heures d'étuve, on note acidification et production de gaz.

Cette méthode simple est surtout intéressante pour l'identification des levures en milieu hospitalier.

Summary

This technique enables the estimation of the acidification and the release of gas in a glucose agar medium.

The material includes a basic medium (glucose agar 9 ‰ to which is added chloramphenicol and purple bromocresol), disks of blotting paper impregnated with different sugared solutions, dried and tyndalised.

The technique consists in putting the sugared disks in hemolysis tubes, then a few drops of emulsion rich in yeast, then 2 ml of the liquid medium. After 24 hours in a drying cupboard an acidification and production of gas are noted.

This simple method is particularly interesting for identifying yeasts in Hospitals.

La technique que nous proposons a été présentée à la Société Linnéenne de Lyon le 25 octobre 1965 et est utilisée en routine pour le diagnostic des *Candida* au Laboratoire de Parasitologie depuis 1964.

Cette méthode, inspirée de celle de Marcelou-Kinti, est basée sur la formation de bulles de gaz en milieu faiblement gélosé sous l'influence de la fermentation d'un sucre par une levure.

Nous avons apporté à cette méthode un certain nombre de modifications dans le double but d'obtenir des résultats plus rapides et de simplifier les manipulations.

Nous employons une concentration en sucre et en levure élevée : nous avons en effet constaté que, comme toute action enzymatique, la rapidité de l'acidification et la quantité de gaz obtenu leur étaient proportionnelles. La concentration de gélose optimum nous a paru être 9‰ ; une concentration supérieure inhibe le dégagement gazeux dans le milieu, une concentration inférieure à 5‰ favorise l'élimination des bulles de gaz au fur et à mesure de leur formation.

Les sucres à tester peuvent être incorporés au milieu avant la stérilisation ou encore ajoutés avant l'ensemencement de la levure sous forme de quelques gouttes d'une solution concentrée stérile répartie dans les tubes à hémolyse.

Pour simplifier les manipulations nous utilisons un seul milieu gélosé et des disques de papier buvard imprégnés des diverses solutions sucrées ; les disques peuvent être préparés à l'avance et stockés après dessiccation.

Enfin, nous avons choisi comme indicateur le bromocrésol pourpre en raison de son virage à pH bas.

TECHNIQUE.

● *Le milieu :*

Gélose	9 g
Peptone de Chapotaut	10 g
Bromocrésol pourpre	0,04 g
Chloramphénicol	0,5 g
Eau du robinet	1.000 ml

Faire tremper la veille la gélose dans 900 ml d'eau. Liquéfier à chaud le mélange gélose, peptone et eau. Ajouter le Bromocrésol dissous dans 100 ml d'eau ainsi que la chromomycétine. La couleur du milieu doit varier du pourpre au violet.

Le milieu est réparti en tubes vissés à raison de 14 ml par tube, puis stérilisé à 115° pendant 20 minutes.

● *Les disques imprégnés de sucres :*

Des disques de papier filtre épais et numérotés sont imprégnés de trois gouttes d'une solution de chaque sucre à tester (solution à 30 %). Les disques peuvent être séchés à l'étuve et stockés en tubes bouchés hermétiquement, puis tyndallisés.

● *L'ensemencement :*

L'inoculum doit être riche : la levure à identifier a été ensemencée largement sur un tube de Sabouraud, quarante-huit heures auparavant.

On répartit les disques dans des tubes à hémolyse stériles bouchés au coton. On imbibe chaque disque de quatre à cinq gouttes d'une émulsion de levure obtenue en reprenant par 2 ml de sérum physiologique la totalité de la culture sur Sabouraud.

Un tube de milieu a été liquéfié au bain-marie bouillant ; lorsque sa température est descendue au voisinage de 40-45°, on répartit environ 2 ml de ce milieu dans chaque tube contenant déjà sucre et émulsion de levure.

La lecture s'effectue après vingt-quatre heures d'étuve à la température optimum de pousse de la levure (37° ou 27° C).

En cas de résultat douteux, dû à l'utilisation d'une culture trop ancienne ou d'un inoculum insuffisant, on fait une deuxième lecture après quarante-huit heures en ayant pris soin de boucher les tubes au caoutchouc pour éviter la dessiccation du milieu.

On note l'acidification avec virage au jaune de l'indicateur ainsi que la production de gaz.

Cette méthode est sensible et permet de détecter en vingt-quatre heures des fermentations faibles comme celle du galactose par le *Candida albicans*.

Elle est aussi quantitative permettant d'apprécier l'intensité du dégagement gazeux : celui-ci consiste soit en une simple bulle de gaz au contact du buvard au fond du tube, soit en nombreuses bulles fragmentant la gélose ou la soulevant en bloc.

En raison de la simplicité des manipulations et surtout de la rapidité des résultats cette méthode est particulièrement intéressante pour l'identification des *Candida* isolés des produits pathologiques.
