

Agar chromID™ VRE

IVD

Wybiórcze podłoże chromogenne do wykrywania i różnicowania *Enterococcus faecium* i *E. faecalis* wykazujących nabytą oporność na wankomycynę (VRE).

WPROWADZENIE

Agar chromID™ VRE jest wybiórczym podłożem chromogennym do wykrywania *E. faecium* i *E. faecalis* wykazujących nabytą oporność na wankomycynę (VRE), u pacjentów z grup ryzyka (1).

Agar chromID™ VRE umożliwia różnicowanie *Enterococcus faecium* i *E. faecalis*.

E. faecium i *E. faecalis* z nabytą opornością na wankomycynę (głównie genotypy VanA i VanB) są wieloopornymi bakteriami, które mogą być odpowiedzialne za zakażenia związane z opieką zdrowotną (2). Wykrywanie tego mechanizmu oporności jest szczególnie ważne z punktu widzenia profilaktyki i nadzoru epidemiologicznego takich infekcji jak również w celu zapobiegania pojawianiu się wankomycynopornych *Staphylococcus aureus* (VRSA), poprzez transmisję genu *vanA* (3, 4).

Podłoże to nie zastępuje konwencjonalnych metod oznaczania lekowrażliwości.

ZASADA DZIAŁANIA

Agar chromID™ VRE (w trakcie rejestracji patentu) opiera się na różnych bogatych w substancje odżywcze peptonach. Zawiera on również dwa substraty chromogenne i mieszaninę antybiotyków w tym wankomycynę (8 mg/l), które umożliwiają:

- specyficzny i selektywny wzrost VRE.
- bezpośrednie wykrycie *E. faecium* i *E. faecalis* dzięki charakterystycznemu zabarwieniu kolonii
 - *E. faecium*: fioletowy kolor dzięki wytwarzaniu β -galaktozydazy,
 - *E. faecalis*: niebieskozielony kolor dzięki wytwarzaniu α -glukozydazy.

Mieszanina wybiórcza hamuje:

- szczepy enterokoków, które nie wykazują ekspresji nabytej oporności na wankomycynę,
- gatunki enterokoków, które wykazują ekspresję naturalnej oporności na wankomycynę (genotyp *vanC*: *E. gallinarum* i *E. casseliflavus*),
- większość bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich, drożdżaków i pleśni.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU

Podłoże gotowe do użycia

REF 43 004

Opakowanie na 20 płytek (90 mm)
VRE *

* wydrukowano na każdej płytce

SKŁAD

Teoretyczna zawartość składników.

Podłoże to może być dostosowywane i/lub uzupełniane zgodnie z wymaganymi kryteriami:

Pepton kazeinowy i mięsny (wołowy lub wieprzowy)	18 g
Pepton sercowy (wołowy lub wieprzowy)	3 g
Skrobia	1 g
Chlorek sodu	6 g
Agar	15,0 g
Mieszanina substratów chromogennych	0,12 g
Mieszanina wybiórcza	52,3 mg
Oczyszczona woda	1 l

pH 7,2

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

- Inkubator bakteriologiczny.
- Krążki z wankomycyną (30 µg).
- Bulion mózgowo-sercowy (Ref. 42 081) (probówka na 9 ml).

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.**
- **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Bieżąca wersja" Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Podłoża hodowlane nie powinny być wykorzystywane jako materiał do produkcji lub składniki.
- Nie używać płytek przeterminowanych
- Nie używać podłoża, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Nie używać przerośniętych lub wyschniętych płytek.
- Osoby z zaburzeniami percepcji kolorów mogą mieć problemy ze stosowaniem podłoża.
- Na jednej płytce należy posiewać tylko jeden materiał.
- Odczyt i interpretację należy przeprowadzać na pojedynczych koloniach.
- W agarze mogą wytworzyć się strąty, które nie wpływają na jego przydatność.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów.

PRZECHOWYWANIE

- Płytki przechowywać w pudełku w temperaturze 2-8°C do upłynięcia daty ważności.
- Jeśli nie są w pudełku, płytki mogą być przechowywane przez 2 tygodnie w 2-8°C w opakowaniach celofanowych w ciemności.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Można używać różnych typów materiałów: kał, wymazy z odbytu.

Należy posiewać je bezpośrednio na płytkę lub po uprzednim namnożeniu w bulionie (patrz ulotka), w celu lepszego wykrywania genotypu *vanB* enterokoków.

Uwaga:

- zalecane jest użycie wymazówek (najlepiej kłaczkowych) z płynnym podłożem transportowym w celu optymalizacji odzysku VRE.
- VRE może być hamowane jeśli pacjent przyjmował leki zawierające substancje antyseptyczne jak wodorotlenek sodowy lub glukonian chlorheksydyny.

Należy respektować zasady dobrej praktyki laboratoryjnej dotyczące pobierania i transportu materiału dostosowując je do jego typu.

SPOSÓB WYKONANIA

Podłoże nie może być wystawiane na światło dłużej niż na czas posiewu i odczytu.

1. Doprowadzić płytki do temperatury pokojowej.
2. Posiać materiał badany:
 - albo bezpośrednio na agar chromID™ VRE
 - albo po namnożeniu (18-24 godzin w 37°C) w bulionie mózgowo-sercowym (Ref. 42 081) zawierającym 3,3 mg/l wankomycyny (stężenie uzyskane po dodaniu krążka z 30 µg wankomycyny).
3. Inkubować w 37°C przykrywką do dołu, w ciemności, w warunkach tlenowych. Hodowle są na ogół oceniane po 24 godzinach inkubacji.
W przypadku otrzymania wyniku ujemnego (brak wzrostu lub charakterystycznego koloru) przedłużyć inkubację o dalsze 24 godziny.

ODCZYT I INTERPRETACJA

Po inkubacji, obserwować wzrost bakterii i kolor pojedynczych kolonii. Typowe kolonie *E. faecium* i *E. faecalis* z nabytą opornością na wankomycynę (VRE) są :

- **fioletowe:** gatunek *E. faecium*
- **niebieskozielone:** gatunek *E. faecalis*

Należy potwierdzić, czy kolonie o typowym zabarwieniu to ziarniaki Gram-dodatnie.

KONTROLA JAKOŚCI

Protokół:

Właściwości odżywcze i wybiórczość podłoża można sprawdzać przy użyciu następujących szczepów:

- *Enterococcus faecium* ATCC® 700221.
- *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299.
- *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212.

Zakres spodziewanych wyników:

Szczep	Wyniki w 33-37°C
<i>Enterococcus faecium</i> (<i>vanA</i>) ATCC® 700221	Wzrost i fioletowy kolor po 24 godzinach
<i>Enterococcus faecalis</i> (<i>vanB</i>) ATCC® 51299	Wzrost i niebieskozielony kolor po 24 godzinach
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Brak wzrostu po 48 godzinach

Uwaga:

Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości biorąc pod uwagę zamierzony sposób wykorzystania podłoża i zgodność z lokalnymi przepisami (częstotliwość, liczba szczepów, temperatura i czas inkubacji itd.).

OGRANICZENIA TESTU

- Nieliczne szczepy *E. gallinarum* i *E. hirae* z nabytą opornością na wankomycynę mogą wyrosnąć na podłożu chromID VRE dając typowe, fioletowe kolonie.
- Niektóre mikroorganizmy inne niż enterokoki (włączając w to drożdżaki, pałeczki Gram-ujemne, *Pediococcus*), mogą wyrosnąć na podłożu dając typowe kolonie, zazwyczaj z inną morfologią.
- Wzrost zależy od indywidualnych wymagań każdego mikroorganizmu. Może zdarzyć się, że jakiś szczep *E. faecium* lub *E. faecalis* z nabytą opornością na wankomycynę (VRE) o specyficznych wymaganiach (substrat, temperatura, warunki inkubacji, itd.) nie wyrośnie lub nie wytworzy typowych kolonii.
- Po 48 godzinach inkubacji, jeśli posiew bezpośredni zostanie wykonany gęstym inokulum, można zaobserwować w miejscu posiania wzrost typowych kolonii wankomycyno-wrażliwych szczepów *E. faecium* i *E. faecalis*.

OCENA TESTU

Podłoże chromID™ VRE (ref. 43004) porównywano z podłożem chromID™ VRE (ref. 43002) po 18-24 godzinach (D1) i 48 godzinach (D2).

Dwa badania przeprowadzono w Kanadzie i w Niemczech, przy użyciu 540 materiałów pochodzących od ludzi (kał i wymazy z odbytu). Posiew na agar wykonywano bezpośrednio lub po namnożeniu w bulionie mózgowo-sercowym z krążkiem z wankomycyną przez 18–24 godzin a następnie inkubowano w 37°C. Dla 62 materiałów badanych uzyskano wynik dodatni (*E. faecium* *vanA* i *vanB*) na przynajmniej jednym z dwóch podłoży.

Uwaga: wszystkie wyizolowane szczepy VRE należały do gatunku *E. faecium*. Własna ocena testu, przeprowadzona przy użyciu kolekcji szczepów wykazała, że czułość wykrywania *E. faecalis* odpowiada czułości wykrywania *E. faecium*.

Wyniki uzyskane bez namnożenia

Czułość wykrywania VRE (przedział ufności - 95%)

	chromID™ VRE (ref. 43004)	chromID™ VRE (ref. 43002)
D1	64,1% [47,2-78,8] <i>vanA</i> : 10/12 <i>vanB</i> : 15/27	59% [42,1-74,4] <i>vanA</i> : 10/12 <i>vanB</i> : 13/27
D2	97,4% [86,5-99,9] <i>vanA</i> : 11/12 <i>vanB</i> : 27/27	97,4% [86,5-99,9] <i>vanA</i> : 11/12 <i>vanB</i> : 27/27

Specyficzność (przedział ufności - 95%)

	chromID™ VRE (ref. 43004)	chromID™ VRE (ref. 43002)
D1	98,8% [97,4-99,6] 495/501	98,4% [96,9-99,3] 493/501
D2	95,6% [93,4-97,2] 479/501	94,4% [92-96,3] 473/501

Wyniki uzyskane po wybiórczym namnożeniu (patrz ulotka)

Czułość wykrywania VRE (przedział ufności - 95%)

	chromID™ VRE (ref. 43004)	chromID™ VRE (ref. 43002)
D1	69% [55,5-80,5] <i>vanA</i> : 11/12 <i>vanB</i> : 29/46	65,5% [51,9-77,5] <i>vanA</i> : 11/12 <i>vanB</i> : 27/46
D2	94,8% [85,6-98,9] <i>vanA</i> : 12/12 <i>vanB</i> : 43/46	91,4% [80-97,1] <i>vanA</i> : 11/12 <i>vanB</i> : 42/46

Specyficzność (przedział ufności - 95%)

	chromID™ VRE (ref. 43004)	chromID™ VRE (ref. 43002)
D1	98,1% [96,5-99,1] 473/482	96,9% [94,9-98,3] 467/482
D2	97,9%* [96,2-99] 472/482	94,8%* [92,4-96,6] 457/482

* Specyficzność podłoża chromID VRE (Ref. 43004) jest znacząco wyższa niż chromID (Ref. 43002).

Wartość prawdziwa ujemna (VPN) zgodnie z użytą metodą.

	chromID™ VRE (ref. 43004)		chromID™ VRE (ref. 43002)	
	Posiew bezpośredni	Po namnożeniu w bulionie mózgowo-sercowym	Posiew bezpośredni	Po namnożeniu w bulionie mózgowo-sercowym
D1	92,7% [90,1-94,8]	95,5% [93,3-97,2]	92,3% [89,7-94,5]	95,1% [92,8-96,8]
D2	95% [92,7-96,8]	98,5% [97-99,4]	94,9% [92,6-96,7]	98,1% [96,3-99,1]

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI









Zużytych i nieużytych odczynników, jak również zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekowanie ich i usuwanie (zlecenie dezynfekcji i usuwania) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

PIŚMIENNICTWO

1. MUTO C.A., JERNIGAN J.A., OSTROWSKY B.E. *et al.* – Guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, 2003, Vol. 24, p. 362-386.
2. YESIM CETINKAYA, PAMELA FALK, and C. GLEN MAYHALL – Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, Oct. 2000, p. 686-707.
3. TACCONELLI E. – New strategies to identify patients harbouring antibiotic-resistant bacteria at hospital admission. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2006, Vol. 12, p. 102-109.
4. TENOVER F.C., WEIGEL L.M., APPELBAUM P.C. *et al.* – Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolate from a Patient in Pennsylvania. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* – Jan. 2004, Vol. 48, N°1, p. 275-280.
5. NAAS T., FORTINEAU N., SNANOUDJ R. *et al.* – First nosocomial outbreak of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* expressing a VanD-like phenotype associated with a *vanA* genotype. *J. Clin. Microbiol.* – Aug. 2005, Vol. 43, N°8, p. 3642-3649

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób do diagnostyki In Vitro
	Producent
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji obsługi
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Chronić przed światłem

BIOMERIEUX, logo BIOMERIEUX, oraz CHROMID są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.

Znak towarowy ATCC i nazwa handlowa oraz wszelkie numery katalogowe ATCC są znakami towarowymi należącymi do American Type Culture Collection.

CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Wszelkie inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.