

CHROMagar VRE

INSTRUKCJA UŻYCIA GOTOWEGO PODŁOŻA NA PŁYTCE

1. Przeznaczenie

CHROMagar VRE jest podłożem chromogennym używanym do jakościowego wykrywania i selektywnej izolacji wankomycynoopornych *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* (VRE -Vancomycin-Resistant Entrococcus) w próbkach materiałów klinicznych pochodzących od człowieka.

Funkcją podłoża CHROMagar VRE jest wspomaganie diagnozy u pacjentów z objawami wskazującymi na zakażenie ziarniakami Gram-dodatnimi, a także w badaniach przesiewowych, prognozowanie występowania mechanizmu oporności i przewidywanie odpowiedzi lub reakcji na leczenie.

Rodzaj *Enterococcus* obejmuje patogeny oportunistyczne, które mogą powodować infekcje poza swoim fizjologicznym miejscem bytowania, szczególnie u osób z zaburzeniami funkcjonowania układu odpornościowego. Bakterie te mogą być przyczyną zakażeń dróg moczowych, ran, bakteriemii, zapalenia wsierdza. Bakterie te często są izolowane od pacjentów z wielodrobnoustrojowymi infekcjami wewnątrzbrzusznymi. Najczęściej izoluje się dwa gatunki: *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* rzadziej *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus raffinosus* i *Enterococcus hirae*. *Enterococcus faecalis* częściej wywołuje schorzenia w obrębie jamy brzusznej, a *Enterococcus faecium* dróg moczowych i zakażenia ran.

Coraz większy problem we współczesnej medycynie stanowi oporność drobnoustrojów na antybiotyki. W przypadku enterokoków szczególne niebezpieczne są szczepy odporne na wankomycynę (VRE, Vancomycin-Resistant Entrococcus). Ze względu na typ oporności, bakterie z rodzaju *Enterococcus* można podzielić na dwie grupy. Pierwsza grupa obejmuje *E. gallinarum* i *E. casseliflavus*/ *E. flavescens* posiadające tzw. oporność wewnętrzną (typ oporności Van C, Van D, Van E, Van F) charakteryzującą się niską opornością na wankomycynę. Druga grupa obejmuje enterokoki cechujące się nabytą opornością na wankomycynę (typ oporności Van A i Van B). Ten rodzaj oporności najczęściej jest obserwowany u *E. faecium* i *E. faecalis* i może być przenoszony na inne zjadliwe patogeny takie jak np. *S. aureus*. Nosicielstwo enterokoków opornych na wankomycynę dotyczy aż kilku procent osób hospitalizowanych, a szczególnie wysokie jest u pacjentów oddziałów hematologicznych. Coraz częściej wielolekooporne szczepy izolowane są nie tylko z zakażeń szpitalnych, ale także z zakażeń pozaszpitalnych. Szybka identyfikacja *E. faecium* i *E. faecalis* opornych na wankomycynę jest zatem bardzo ważna, gdyż w zakażeniach bakteriami Gram-ujemnymi, antybiotyki glikopeptydowe są stosowane jako leki ostatniego rzutu. Ze względu na to, że drobnoustroje te wchodzą w skład mikrobiomu człowieka istotne jest określanie nosicielstwa tych drobnoustrojów u pacjentów, głównie w celach epidemiologicznych i jako profilaktyka szerzenia zakażeń szpitalnych.

Nr kat.:	Rodzaj podłoża:	Opakowanie:
1460PD90	podłoże stałe na płytce, gotowe do użycia	1x10 szt (90 mm)

2. Zasada działania

Pepton z ekstraktem drożdżowym dostarczają azotu i witamin w podłożu CHROMagar VRE. Suplement selektywny hamuje wzrost większości bakterii. Mieszanina chromogenna pozwala na wykrywanie i różnicowanie wankomycynoopornych *Enterococcus faecalis* i *Enterococcus faecium* o typie oporności Van A i Van B od innych drobnoustrojów, w tym enterokoków o wewnętrznym typie oporności na wankomycynę.

3. Skład podłoża

w g/l wody destylowanej:	Suplementy/ litr pożywki:
Agar	15,0 g
Pepton i ekstrakt drożdżowy	20,0 g
Sole	5,0 g
Mieszanina chromogenna	27,3 g
	Suplement selektywny
	0,06 g

pH $6,9 \pm 0,2$ w temperaturze 25°C.

Wygląd podłoża - Podłoże jednorodne, białe.

4. Przygotowanie pożywki

Pożywka jest gotowa do użycia. Bezpośrednio przed użyciem pożywkę należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

5. Wyposażenie wymagane, nie dostarczone

Sprzęt ogólnolaboratoryjny niezbędny do wykonania badań, w tym cieplarka laboratoryjna.

6. Środki ostrożności

- Produkt przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.
- Produkt nieautomatyzowany.
- Podłoże zawiera składniki pochodzenia zwierzęcego, co może wiązać się z obecnością biologicznych czynników chorobotwórczych, dlatego z podłożem należy postępować zgodnie z zasadami pracy z materiałem biologicznym potencjalnie zakaźnym.
- Nie należy używać płytek, jeżeli na podłożu są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.
- Nie używać płytek uszkodzonych.
- Nie używać płytek po terminie ważności.
- Nie dopuszcza się ponownej inkubacji wcześniej posianych płytek.
- W celu zapewnienia poprawnych wyników badań, należy postępować zgodnie z niniejszą instrukcją.
- W przypadku, gdy postępowanie z pożywką podczas wykonywania badań będzie odbiegało od opisanego w niniejszej instrukcji, laboratorium jest zobowiązane do przeprowadzenia walidacji przyjętego postępowania.

7. Przechowywanie

Płytki z podłożem należy przechowywać w temperaturze 2–12°C do upływu terminu ważności. Podłoże przechowywać w oryginalnym opakowaniu, w pozycji odwróconej z dala od bezpośredniego źródła światła. Aby uniknąć zamrożenia agaru, nie należy przechowywać płytek blisko ścian lodówki. Aby uniknąć pojawienia się większej ilości wody skroplonej na wieczku płytki nie należy otwierać zbyt często lodówki i nie przechowywać podłoży w przepełnionej lodówce.

8. Termin ważności

Podłoże przechowywane w temperaturze 2–12°C zachowuje swoje właściwości do 3 miesięcy od daty produkcji.

9. Materiał do badań

Próbki do badań stanowią pochodzące od człowieka wymazy z odbytu oraz kał.

Próbki do badań należy pobrać zgodnie z aktualnymi wytycznymi. Próbki do badań do czasu dostarczenia do laboratorium przechowywać zgodnie z zasadami przechowywania próbek obowiązującymi w laboratorium. Wymazy pobrane na podłoże transportowe należy przechowywać w temperaturze pokojowej zgodnie z zaleceniami producenta podłoża. Jeżeli materiał do badań stanowi kał, należy go przechowywać w lodówce w temperaturze 2-8°C. Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium.

10. Sposób wykonania

1. Przed użyciem podłoże należy doprowadzić do temperatury pokojowej.
2. Posiać próbkę rozprowadzając ją na powierzchni agaru przy pomocy ezy.
3. Jeżeli próbka została pobrana na wymazówkę - końcówkę wymazówki delikatnie obracać na niewielkim obszarze agaru tuż przy brzegach płytki, a następnie wykonać posiew redukcyjny przy użyciu jałowej ezy.
4. Posiane płytki inkubować w warunkach tlenowych, w temperaturze 35±2°C
5. Wynik wzrostu odczytać po 18-24 godzinach inkubacji.

11. Odczyt i interpretacja wyników wzrostu

Po okresie inkubacji obserwować:

- obecność wzrostu,
- morfologię kolonii,
- wybarwienie kolonii

Typowa morfologia kolonii wyhodowanych na podłożu CHROMagar VRE:

Mikroorganizm	Typowa morfologia kolonii
<i>Enterococcus faecium</i> Szczep wankomycynooporny	różowe do fioletkorożowych
<i>Enterococcus faecalis</i> Szczep wankomycynooporny	różowe do fioletkorożowych
<i>Enterococcus gallinarum</i> Szczep wankomycynooporny	niebieskie lub brak wzrostu
<i>Enterococcus casseliflavus</i> Szczep wankomycynooporny	niebieskie lub brak wzrostu
Pozostałe bakterie Gram-dodatnie	Brak wzrostu
Bakterie Gram-ujemne	Brak wzrostu
Drożdże i pleśnie	W większości brak wzrostu

W celu ostatecznej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów, należy przeprowadzić dodatkowe badania i/lub testy potwierdzające przy użyciu innych metod wykorzystywanych w laboratorium.



Morfologii kolonii i sposób wzrostu *Enterococcus faecalis* na podłożu CHROMagar VRE

12. Kontrola jakości

Właściwości odżywcze i selektywność podłoża należy kontrolować z użyciem szczepów odniesienia dających oczekiwane reakcje dodatnie i ujemne. Badanie należy wykonywać używając czystych, świeżych hodowli szczepów odniesienia dających pożądane reakcje. Do przeprowadzenia kontroli jakości podłoża, należy użyć następujących szczepów odniesienia:

Szczep odniesienia:	Intensywność wzrostu:	Morfologia kolonii:
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	dobry wzrost	małe, różowofioletkowe
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	brak wzrostu	-

Dopuszcza się stosowanie innych szczepów odniesienia zapewniających spójność pomiarową, zgodnie z procedurami i instrukcjami kontroli jakości obowiązującymi w laboratorium. Procedury kontroli jakości powinny spełniać wymagania obowiązujących przepisów oraz wytycznych/rekomendacji.

13. Ograniczenia metody

- Z powodu zmienności wymagań odżywczych, niektóre szczepy mogą rosnąć słabo, albo nie rosnąć wcale na podłożu CHROMagar VRE.
- Typ oporności należy określić i potwierdzić poprzez dodatkowe testy
- Niektóre rzadkie szczepy *Lactobacilli*, *Pediococcus* mogą rosnąć na podłożu CHROMagar VRE w postaci punktowych jasnofioletowych kolonii. Jednakże ich odróżnienie możliwe jest na podstawie testu PYR: dodatnia reakcja PYR wskazuje na obecność enterokoków o typie oporności VRE, zaś ujemna reakcja w teście PYR wskazuje na obecność bakterii z rodzaju *Lactobacilli*, *Pediococcus*.
- Po 24 godzinnej inkubacji niektóre rzadkie szczepy *E. gallinarum* mogą czasem rosnąć w postaci różowofioletkowych

kolonii.

14. Charakterystyka metody

Na podstawowych podłożach takich jak np. Bile Esculine Agar z wankomycyną nie ma możliwości zróżnicowania pomiędzy *E. faecalis* i *E. faecium*. Poza tym, często można uzyskać wyniki fałszywie dodatnie ze względu na obecność innych bakterii hydrolizujących eskulinę np. *Lastococcus spp.*, *Pediococcus spp.*

Badania przeprowadzone przez Merlino wskazują na 100% czułość i specyficzność analityczną pożywki CHROMagar VRE. Z przedstawionych przez Millera i współpracowników badań porównawczych wynika, że czułość i specyficzność diagnostyczna podłoża CHROMagar VRE wynosi odpowiednio 95,5% i 90,4%. Dla porównania, przy metodzie referencyjnej (VRE Slect Agar) czułość i specyficzność diagnostyczna wynosiła odpowiednio 68,2% i 91,8%. Do badań wykorzystano 95 wymazów z odbytu, które inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 35-37°C.

	CHROMagar VRE	CHROMagar VRE	Metoda referencyjna (VRE Select Agar- BioRad)
Czułość	100%*	95,5%**	68,2%**
Specyficzność	100%*	90,4%**	91,8%**

*- dane uzyskane w badaniu "A Novel chromogenic agar medium for the detection of vancomycin resistant Enterococci (VRE)". Merlino et al., Poster ASM 2007.

** - dane uzyskane w badaniu „Evaluation of Three Chromogenic Media for Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci in a tertiary-care Hospital” M.L.Miller et al. CACMID 2011

15. Postępowanie ze zużytymi podłożami

Podłoża po badaniach oraz nieużyte podłoża należy utylizować zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi postępowania z odpadami medycznymi oraz procedurami laboratorium odnośnie utylizacji materiałów zakaźnych i potencjalnie zakaźnych.

16. Zgłaszanie zdarzeń niepożądanych

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, zdarzenia niepożądane i incydenty, które można bezpośrednio powiązać z opisywanym podłożem, należy zgłaszać producentowi oraz Prezesowi Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych na adres:

Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych
Al. Jerozolimskie 181C, 02-222 Warszawa;
Telefon: 48 22 492-11-00
Fax: 48 22 492-11-09

17. Piśmiennictwo

1. John Merlino. et al. 2007, ASM adelaide – Australia, A novel Chromogenic Agar Medium for the Detection of Vancomycin Resistant Enterococci (VRE)
2. Blanco, M.A. ; Lopardo, H.A. 2008. Argentina, Evaluacion de un Medio Cromogénico (CHROMagar) Para La Detection de Enterococos Resistentes a Vancomicina (EVR) a partir de Hisopados Rectales
3. C.C. Rutherford. et al. 2008. Poster presented during 2008 ASM meeting at Boston (USA), Evaluation of Two Chromogenic Media for the Isolation of VRE (Vancomycin Resistant Enterococci)
4. Heidrun Peltroche-Llacsahuanga, Janetta Top, Josefine Weber-Heynemann, Rudolf Luttkicken and Gerhard Haase Journal of Clinical Microbiology, 2009, Comparison of two chromogenic media for selective isolation of vancomycin-resistant enterococci from stool specimens
5. Jones et al. Poster 2009, Utility of CHROMagar VRE for the Identification of VRE in Epidemiology Screens
6. Pillai et al. Poster 2009, Evaluation of Chromogenic Agar for Screening Vancomycin-resistant Enterococcus (VRE)
7. Almohri et al. Poster 2009, Evaluation of a Colorex™ chromogenic media and Bile-esculin azide agar with 6ug vancomycin for the detection of Vancomycin Resistant Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium (VRE)
8. M.L. Miller et al. Queen's University School of Medicine, Department of Pathology and Molecular Medicine, & Kingston General Hospital, Kingston, ON, Canada ASM 2011, Evaluation of Broth Enrichment for the Detection of Vancomycin Resistant Enterococci on Two Chromogenic Media
9. M.L.Miller et al., Evaluation of Three Chromogenic Media for Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci in a tertiary-care Hospital”, poster P26, CACMID 2011
10. Kornherr, Department of Microbiology Gamma Dynacare Medical Laboratories, Ottawa and Toronto, Ontario, Canada. ASM Meeting Poster 2010, Evaluation of Three Commercial Chromogenic Media and BEAA + van 6ug/mL for the Detection of Vancomycin-Resistant Enterococcus (VRE)
11. Kingston General Hospital, ON, Canada. Poster P26, CACMID 2011, Evaluation of Three Chromogenic Media for Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci in a tertiary-care Hospital M.L. Miller et al.










12. Massoud Hajia^{1,2}, Mohammad Rahbar^{1,2*} and Mona Mohammad Zadeh³ ¹Department of Microbiology, Iranian Reference Health laboratory, Ministry of Health and Medical Educations, Tehran, Iran. ²Antibiotic Resistance Research Center, Tehran University of Medic, 2012, A novel method "CHROMagar" for screening vancomycin-resistant enterococci (VRE) isolates
13. Hindley et al Department of microbiology and infectious diseases ASM 2012, Evaluation of CHROMagar compared with enterococcosel broth for the isolation of vancomycin resistant enterococci
14. Pao-Kuei Hsiao, Chieh-Chen Cheng, Kai-Chih Chang, Lih-Ming Yiin, Chia-Jung Hsieh and Chun-Chieh Tseng Aerosol Science and Technology, 2013, Performance of CHROMagar VRE medium for the detection of Airborne Vancomycin-resistant/sensitive Enterococcus species
15. Petra L  thje, Arthur B. Pranada, Duncan Carruthers-Lay, Marc Desjardins, Olivier Gaillot, David Wareham , Holly Ciesielczuk, Volkan   zenci, 2017, Identification of microorganisms grown on chromogenic media by MALDI-TOF MS
16. Fyodorova A.V., Klyasova G.A. National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia, 2018, Detection of vancomycin-resistant enterococci using chromogenic selective medium






Historia zmian dokumentu

Data zmiany	Sekcja	Opis zmiany
2023/08/25	Cały dokument	Dostosowanie do wymaga�� Rozporządzenia UE 2017/746

UWAGA

Historia zmian dokumentu nie uwzgl  dnia zmian redakcyjnych.

SYMBOL	NAZWA SYMBOLU	OPIS	NR REF.
	Wytwórca	Oznacza wytw��rc�� wyrobu medycznego zgodnie z definicj�� zawartą w dyrektywach unijnych 90/385/EWG, 93/42/EWG oraz 98/79/WE.	5.1.1
	Data produkcji	Oznacza dat�� produkcji wyrobu medycznego.	5.1.3
	Numer katalogowy	Oznacza numer produktu w katalogu producenta pozwalający zidentyfikowa�� wyrób medyczny.	5.1.6
	Numer serii / kod partii	Oznacza nadany przez producenta numer partii pozwalający zidentyfikowa�� partię produktów, do której nale��ży wyrób medyczny.	5.1.5
	Wyrób do diagnostyki in vitro	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki in vitro	5.5.1
	Nie u��ywa��c powtórnie	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do jednokrotnego użytku lub do użytku podczas leczenia jednego pacjenta w ramach jednej procedury medycznej.	5.4.2
	Wystarczy na wykonanie <n> testów	Oznacza nadaną przez producenta wartość na ile testów wystarczy wyrób.	5.5.5
	Data przydatności do użycia	Oznacza dat��, po której wyrób medyczny nie powinien by�� używany.	5.1.4
	Przestrzega��c zakresu temperatury	Wskazuje maksymalną i minimalną wartość temperatury, w której nale��ży przechowywać, transportowa�� lub u��ytkowa�� przedmiot.	5.3.7

	Symbol bezpieczeństwa (Zgodność z wymogami UE)	Oznaczenie CE na produkcie stanowi deklarację producenta potwierdzającą zgodność produktu z zasadniczymi wymogami odpowiednich przepisów Unii Europejskiej dotyczących zdrowia, bezpieczeństwa i ochrony środowiska.	nd.
	Sprawdź w instrukcji użycia	Oznacza konieczność zapoznania się z instrukcją użytkowania	5.4.3
	Sterylizowany aseptycznymi technikami przetwarzania	Wskazuje wyrób medyczny, który został wytworzony za pomocą zaakceptowanych technik aseptycznych.	5.2.2
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania	Oznacza wyrób medyczny, który nie powinien być używany, jeśli opakowanie zostało uszkodzone lub otwarte.	5.2.8
	Zawiera materiał biologiczny pochodzenia zwierzęcego	Oznacza wyrób medyczny zawierający materiał biologiczny tj. tkanki, komórki lub ich pochodne pochodzenia zwierzęcego.	5.4.8



Graso Zenon Sobiecki
Krag 4A; 83-200 Starogard Gdański
www.grasobiotech.pl

Oddział produkcyjny
Leśna 1, Owidz
83-211 Jabłowo

