



Chromatic VRE

Chromogenic medium for the detection of vancomycin resistance in enterococci, directly from clinical specimens.

Instructions For Use

ENGLISH

INTENDED USE

Chromatic VRE is a selective and differential chromogenic medium used for the qualitative and presumptive detection of vancomycin-resistant Enterococci (VRE) directly from clinical specimens.

This medium is intended as an aid in the detection of the following bacteria:

Enterococcus faecalis and *Enterococcus faecium* with acquired vancomycin resistance.

Chromatic VRE is not intended to diagnose infection or guide therapy. Results can be interpreted after incubation for 24 hours. Subculture to a non-selective medium is required for confirming identification, antimicrobial susceptibility testing and epidemiological typing.

SUMMARY AND EXPLANATION

Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) were first isolated in Europe in the late 1980s and recently have been associated with nosocomial infections around the world. Acquisition of vancomycin resistance is mediated by several *van* gene clusters. The most commonly encountered vancomycin resistance genes are *vanA* and *vanB*, which are highly transferable between enterococci, mostly *E. faecium* and *E. faecalis*, and can be transferred to other organisms, including *S. aureus* (VRSA).

E. faecium is the most frequently isolated species of VRE in hospitals and typically produces high vancomycin (>128 µg/ml) and teicoplanin (≥16 µg/ml) minimum inhibitory concentrations (MICs). These isolates typically contain *vanA* genes. A *vanB*-containing isolate typically produces lower level resistance to vancomycin (MIC 16 to 64 µg/ml) and is susceptible to teicoplanin (MIC ≤1 µg/ml).

In contrast to *vanA* and *vanB*, *vanC* and *vanD* in VRE are chromosomally associated, i.e. much less transferable. The *vanC* gene generally presents with low-level resistance against vancomycin (MIC 2–32 µg/ml) and teicoplanin (MIC ≤1 µg/ml). Moreover, VRE containing *vanC* are typically *E. gallinarum* or *E. casseliflavus*/*E. flavescens*, and associated with low risk of mortality and rarely cause nosocomial outbreaks. The *vanD* gene, generally, confers moderate-level resistance against vancomycin (MIC 64–128 µg/ml) and teicoplanin (MIC 4–64 µg/ml) and is constitutively expressed.

To limit the spread of glycopeptide resistance between enterococci and to more pathogenic bacteria which in turn can lead to clinical isolates resistant to all antibiotics, several public health institutes now screen for the carriage of *vanA*- and *vanB*-positive VRE in hospitalized patients.

TYPICAL FORMULA*

	(g/litre)
Peptones	30.0
Sodium Chloride	5.0
Chromogenic and Selective Mix	6.5
Agar	15.0

Final pH 7.2 ± 0.2 at 25°C

*Adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

METHOD PRINCIPLE

Peptones provide amino acids, nitrogen, minerals, vitamins, and nutrient factors for growth of bacteria. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. The chromogenic and selective mix facilitates the identification of bacteria on the basis of the color and colony morphology, inhibiting most of yeasts and bacteria with the exception of VRE. Agar is the solidifying agent.

TEST PROCEDURE

Inoculate the specimen with a swab or loop directly onto the medium, or after enrichment in a broth, and streak for isolation, using a loop. Incubate the agar plates in an inverted position (medium side up) aerobically at 35 ± 2°C for 24 hours. If no colonies are seen, reincubate for a total of 48 hours.

Notes:

Do not inoculate more than one specimen per plate. Chromatic VRE is primarily used with peri-rectal/anal swabs and stool specimens. Avoid exposure to light during incubation as this might destroy the chromogens.

INTERPRETING RESULTS

At the end of incubation, observe the appearance of the colonies and interpret the results as indicated in the ID Table.

ID Table.

Microorganism	Typical colony color
Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecalis</i>	Violet to mauve
Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecium</i>	Blue-green
Other organisms (if not inhibited)	Colorless or natural color

See Appendix I for example pictures.

Notes:

- Some micro-organisms other than enterococci (including yeasts, Gram-negative bacilli, *Pediococcus*) may develop on the medium and produce typical colonies but which generally differ morphologically.
- Growth depends on the requirements of each individual microorganism. A lack of growth or the absence of violet to mauve or blue-green colonies on Chromatic VRE does not preclude the presence of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* with acquired vancomycin resistance.
- Appropriate susceptibility tests, molecular methods or phenotypic methods must be performed to confirm the presence of VRE isolates.

APPEARANCE

Light amber, slightly opalescent.

STORAGE

Store at 2-8°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

3 months.

QUALITY CONTROL

To check the performance of the medium the following microbial reference strains can be used.

Microorganism		Inoculum	Incubation	Sepecification
<i>Enterococcus faecalis</i> (vanB)	ATCC® 51299	50-100 CFU	24-48 h / 35 ± 2°C	Good growth, violet to mauve colonies
<i>Enterococcus faecium</i> (vanA)	DSM 13590			Good growth, blue-green colonies
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	10 ⁴ -10 ⁶ CFU		Inhibition
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC® 19434			Inhibition
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922			Inhibition

LIMITATIONS

Chromatic VRE is considered for **screening**, and **not for final identification** of VRE.

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for professional use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.

BIBLIOGRAPHY

See the references at the end of this document.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of this document.

Product	Format	Packaging	Ref.
Chromatic VRE	Plate 90 mm	20 plates	11621

This document is available from the online Support Center:

lioilchem.com/ifu-sds



Chromatic VRE

Terreno cromogenico per la ricerca di Enterococchi
resistenti alla vancomicina, direttamente da campioni clinici.

Istruzioni per l'uso

ITALIANO

DESCRIZIONE

Chromatic VRE è un terreno cromogenico selettivo e differenziale utilizzato per la rilevazione qualitativa e presuntiva di enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE) direttamente da campioni clinici.

Questo terreno è inteso come aiuto nella rilevazione dei seguenti batteri:

Enterococcus faecalis ed *Enterococcus faecium* resistenti alla vancomicina.

Chromatic VRE non ha lo scopo di diagnosticare infezioni o guidare la terapia. I risultati possono essere interpretati dopo l'incubazione per 24 ore. La subcoltura su un terreno non selettivo è necessaria per confermare l'identificazione, e per effettuare i test di sensibilità antimicrobica o la tipizzazione epidemiologica.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Gli Enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE) sono stati isolati per la prima volta in Europa alla fine degli anni '80 e recentemente sono stati associati a infezioni nosocomiali in tutto il mondo. L'acquisizione della resistenza alla vancomicina è mediata da diversi cluster del gene *van*. I geni della resistenza alla vancomicina più comunemente riscontrati sono *vanA* e *vanB*, i quali sono altamente trasferibili tra gli enterococchi, principalmente *E. faecium* ed *E. faecalis*, e possono essere trasferiti ad altri organismi, incluso *S. aureus* (VRSA).

E. faecium è la specie di VRE più frequentemente isolata negli ospedali e tipicamente presenta MIC (concentrazioni inibitorie minime) alte per vancomicina ($>128 \mu\text{g/ml}$) e teicoplanina ($\geq 16 \mu\text{g/ml}$). Questi isolati contengono tipicamente geni *vanA*. Un isolato contenente *vanB* produce tipicamente una resistenza di livello inferiore alla vancomicina (MIC da 16 a $64 \mu\text{g/ml}$) ed è sensibile alla teicoplanina (MIC $\leq 1 \mu\text{g/ml}$).

Contrariamente a *vanA* e *vanB*, *vanC* e *vanD* in VRE sono cromosomicamente associati, quindi molto meno trasferibili. Il gene *vanC* presenta generalmente una resistenza di basso livello contro vancomicina (MIC 2-32 $\mu\text{g/ml}$) e teicoplanina (MIC $\leq 1 \mu\text{g/ml}$). Inoltre, VRE contenenti *vanC* sono tipicamente *E. gallinarum* o *E. casseliflavus*/*E. flavescentis* e associati a basso rischio di mortalità e raramente causano focolai nosocomiali. Il gene *vanD*, generalmente, conferisce una resistenza di livello moderato alla vancomicina (MIC 64-128 $\mu\text{g/ml}$) e alla teicoplanina (MIC 4-64 $\mu\text{g/ml}$) ed è espresso costitutivamente.

Per limitare la diffusione della resistenza ai glicopeptidi tra gli enterococchi e ai batteri più patogeni che a loro volta possono portare a isolati clinici resistenti a tutti gli antibiotici, diversi istituti di sanità pubblica ora effettuano lo screening per la presenza di VRE *vanA* e *vanB*-positivi nei pazienti ospedalizzati.

FORMULA TIPICA*

	(g/litro)
Peptoni	30.0
Sodio Cloruro	5.0
Mix Cromogenico e Selettivo	6.5
Agar	15.0

pH Finale 7.2 ± 0.2 a 25°C

*Adattata e/o integrata per soddisfare le specifiche di performance richieste.

PRINCIPIO DEL METODO

I peptoni forniscono aminoacidi, azoto, minerali, vitamine e fattori nutritivi per la crescita dei microrganismi. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. Il mix cromogenico e selettivo facilita l'identificazione

dei batteri in base al colore e alla morfologia della colonia, inibendo la maggior parte dei lieviti e batteri con l'eccezione dei VRE. L'agar è l'agente solidificante.

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare il campione con un tampone o un'ansa direttamente sul terreno, o dopo l'arricchimento in un brodo, e strisciare per l'isolamento, utilizzando un'ansa. Incubare le piastre in posizione capovolta (terreno rivolto verso l'alto) in aerobiosi a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ per 24 ore. Se non si vedono colonie, reincubare per un totale di 48 ore.

Note:

Non inoculare più di un campione per piastra. Chromatic VRE viene utilizzato principalmente con tamponi rettali/perianali e campioni fecali. Evitare l'esposizione alla luce durante l'incubazione poiché ciò potrebbe distruggere i cromogeni.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Alla fine dell'incubazione, osservare l'aspetto delle colonie e interpretare i risultati come indicato nella tabella ID.

Tabella ID.

Microrganismo	Colore delle colonie tipiche
<i>Enterococcus faecalis</i> vancomicina resistente	Da viola a malva
<i>Enterococcus faecium</i> vancomicina resistente	Blu-verde
Altri microrganismi (se non inibiti)	Incolore o colore naturale

Vedere l'Appendice I per immagini di esempio.

Note:

- Alcuni microrganismi che non sono enterococchi (incluso lieviti, bacilli Gram-negativi, *Pediococcus*) possono sviluppare sul terreno colonie tipiche che generalmente differiscono morfologicamente.
- La crescita dipende dalle necessità proprie di ciascun microrganismo. Una mancanza di crescita o l'assenza di colonie di colore da viola a malva o blu-verde su Chromatic VRE non preclude la presenza di *Enterococcus faecalis* ed *Enterococcus faecium* con resistenza acquisita alla vancomicina.
- Devono essere eseguiti appropriati test di sensibilità, metodi molecolari o metodi fenotipici per confermare la presenza di isolati VRE.

ASPETTO

Ambra chiaro, leggermente opalescente.

CONSERVAZIONE

Conservare a $2-8^\circ \text{C}$ al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

3 mesi.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Per il controllo delle performance del terreno si possono utilizzare i seguenti ceppi microbici di riferimento.

Microrganismo		Inoculo	Incubazione	Specifiche
<i>Enterococcus faecalis</i> (vanB)	ATCC® 51299	50-100 CFU	24-48 h / 35 ± 2°C	Crescita buona, colonie da viola a malva
<i>Enterococcus faecium</i> (vanA)	DSM 13590			Crescita buona, colonie blu-verdi
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212	10 ⁴ -10 ⁶ CFU		Inibizione
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC® 19434			Inibizione
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922			Inibizione

LIMITAZIONI

Chromatic VRE è considerato come terreno di **screening** e **non per l'identificazione finale** dei batteri VRE.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso professionale e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

Vedere i riferimenti alla fine di questo documento.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli alla fine di questo documento.

Descrizione Prodotto	Formato	Confezionamento	Ref.
Chromatic VRE	Piastra 90 mm	20 piastre	11621

Questo documento è disponibile dal Support Center online:

liofilchem.com/ifu-sds

BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAFIA

- Centers for Disease Control and Prevention. Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) in Healthcare Settings. <https://www.cdc.gov/hai/organisms/vre/vre.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) and the Clinical Laboratory. <https://www.cdc.gov/hai/settings/lab/vreclinical-laboratory.html>
- Flipse J *et al.* (2019) Appearance of vanD-positive Enterococcus faecium in a tertiary hospital in the Netherlands: prevalence of vanC and vanD in hospitalized patients. *Sci Rep.* 9(1):6949.
- Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC (1988) Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1 (8575-6): 57-8.
- Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P (1988) Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N. Engl. J. Med.* 319(3): 157-61.
- Chavers LS, Moser SA, Benjamin WH, Banks SE, Steinhauer JR, Smith AM, Johnson CN, Funkhouser E, Chavers LP, Stamm AM, Waiters KB (2003) Vancomycin-resistant enterococci: 15 years and counting. *J. Hosp. Infect.* 53(3): 159-71.
- Courvalin P (2006) Vancomycin Resistance in Gram-positive Cocci. *Clin. Infect. Dis.* 42:S25-34.

TABLE OF SYMBOLS / TABELLA DEI SIMBOLI

	Batch code / Codice del lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in Vitro</i>
	Manufacturer / Fabbricante
	Use by / Utilizzare entro
	Fragile, handle with care / Fragile, maneggiare con cura
	Temperature limitation / Limiti di temperatura
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> saggi
	Consult instructions for use / Consultare le istruzioni per l'uso
	Do not reuse / Non riutilizzare
	Keep away from light / Tenere al riparo dalla luce

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

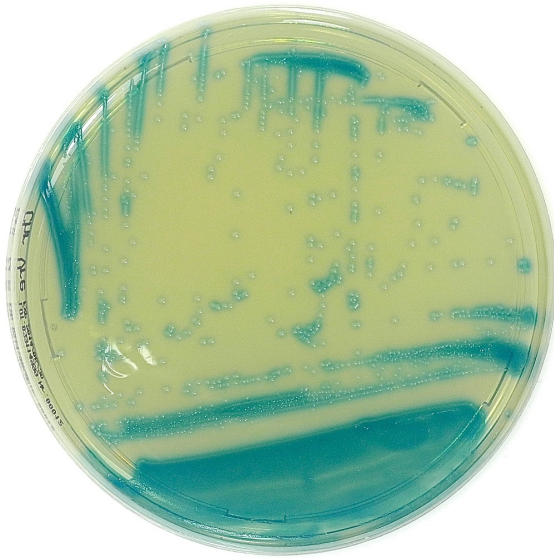
liofilchem@liofilchem.com





Chromatic VRE

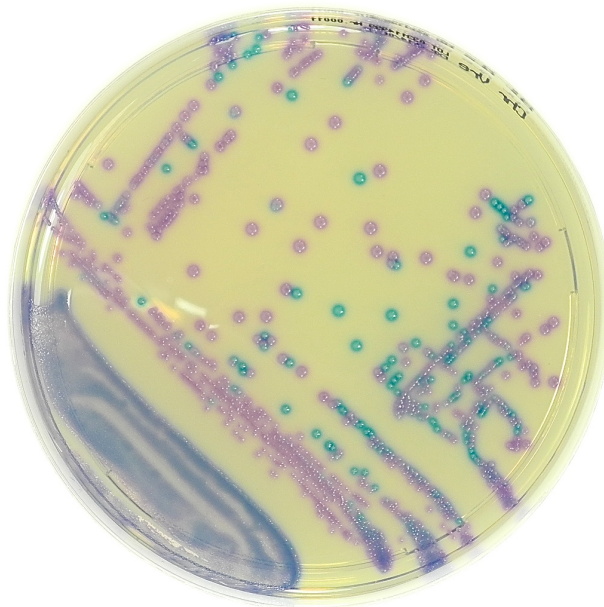
Chromogenic medium for detection of vancomycin-resistant Enterococci (VRE) directly from clinical specimens.



Enterococcus faecium



Enterococcus faecalis



Enterococcus faecium (green-blue)
Enterococcus faecalis (violet to mauve)



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia, 64026 Roseto degli Abruzzi (TE) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

