



VRE Broth

Enrichment medium for detection of vancomycin-resistant enterococci.

INTENDED PURPOSE

VRE Broth is a selective enrichment medium used in procedures for screening, isolation and cultivation of vancomycin-resistant enterococci. This medium is intended as an aid in the diagnosis, requiring additional tests to complete the diagnostic results.

DESCRIPTION

Enterococci have developed a variety of mechanisms of resistance to several antibiotics, including glycopeptides like vancomycin and teicoplanin. Resistance to glycopeptides is mediated by the Van operon, which may be carried chromosomally or extrachromosomally on a plasmid, with vanA, vanB and VanC the most commonly identified genes. VanA is plasmid borne, confers high-level resistance (MIC, >256 µg/ml) to vancomycin, and is most associated with *E. faecium* and *E. faecalis*, while chromosomally encoded VanC confers low-level resistance (MIC, 8 to 32 µg/ml) to vancomycin and is almost exclusively found in *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, and *E. flavescens*.

VRE Broth can be used as an enrichment broth before plating to contrast the spread of glycopeptide resistance. The combination of direct inoculation on agar plates and enrichment broth, allows a fast detection of vancomycin-resistant enterococci and at the same time ensures the capability of detecting VRE carriers with low concentrations of VRE in the digestive tract.

TYPICAL FORMULA* (Per liter of Purified Water)

Tryptone	17.0 g
Meat Extract	3.0 g
Yeast Extract	5.0 g
Oxgall	10.0 g
Sodium Chloride	5.0 g
Sodium Citrate	1.0 g
Aesculin	1.0 g
Ferric Ammonium Citrate	0.5 g
Sodium Azide	0.25 g
Vancomycin	1.0 mg
Final pH 7.1 ± 0.2 at 25°C	

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

METHOD PRINCIPLE

Tryptone and meat extract are a nitrogen source readily available for bacterial growth. Tryptone is a product obtained by a controlled enzymatic hydrolysis of casein and contains a mix of peptides and free amino acids. Yeast extract is a source of amino acids and vitamins of group B. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Oxgall is ox bile purified and dehydrated. It contains a mix of biliary salts. Aesculin is a glucoside which is combined with ferric citrate in the medium to form a dark brown or black complex. Sodium azide inhibits Gram negative bacteria. The combination of aesculin, bile and azide permit for the selection and differentiation of enterococci by aesculin hydrolysis. Vancomycin is effective against gram-positive bacteria, other than vancomycin-resistant enterococci.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Standard microbiological supplies and equipment such as: inoculating loops, sterile cotton swabs, physiological solution, incubator, quality control organisms.

SPECIMENS

The broth is inoculated from stools and rectal swabs.

Clinical specimens should be sampled at the acute stage, before antimicrobial therapy (where possible) and examined as soon as possible after collection.

Good laboratory practices for collection, transport and storage of the clinical specimens should be applied. Refer to specific guidelines for more information about specimen collection and preparation.

TEST PROCEDURE

Inoculate the medium with the sample.

Incubate at $35 \pm 2^\circ\text{C}$ for 24-48 hours.

INTERPRETING RESULTS

Observe for growth and a color change in the medium.

Turbidity and a blackening of the broth (compared to an uninoculated control) indicate the presence of *Enterococcus* spp.

Subculture to suitable solid media for complete identification and characterization of the isolated colonies.

STORAGE

Store at $2-8^\circ\text{C}$ 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

4 months.

QUALITY CONTROL

Appearance of medium: Clear, yellow/yellow-green to beige.

Expected Cultural Response:

Control strains	Inoculum	Incubation	Specification
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00152 (ATCC® 51299; NCTC 13379)	≤ 100 CFU	24-48 h/ 35 ± 2°C	Good growth, turbidity Positive reaction: Blackening of broth
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009 (ATCC® 19433; NCTC 775)	> 10 ³ CFU		Inhibition
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)			Inhibition

Please refer to the actual batch related Certificate of Analysis (CoA).

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Performance testing of VRE Broth was carried out using the QC strains listed above. The results obtained met the established criteria.

LIMITATIONS

Invalid results can be caused by poor sample quality, improper sample collection, improper transportation, improper laboratory processing, or a limitation of the testing technology. The operator should understand the principles of the procedures, including its performance limitations, in advance of operation to avoid potential mistakes.

Growth depends on the requirements of each individual microorganism. It is therefore possible that certain strains which have specific requirements (substrate, temperature, incubation conditions, etc.) may not develop. There could be interfering substances or contaminants inadvertently introduced into the specimen which might inhibit the growth of VRE strains in the broth.

WARNING AND PRECAUTIONS

- 1) **For *in vitro* diagnostic use (IVD).**
- 2) **For laboratory professional use only.**
- 3) Operators must be trained and have certain experience. Please read the instructions carefully before using the product. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this document.
- 4) Consult the Safety Data Sheet (SDS) for information regarding hazards and safe handling practices.
- 5) Do not use if the product or packaging appears to be damaged.
- 6) Follow standard precautions. All patient specimens should be considered potentially infectious and handled accordingly.
- 7) Handle all specimens as if infectious using safe laboratory procedures. Dispose of hazardous or biologically contaminated materials according to the practices of your institution.

- 8) Avoid cross-contamination of samples by using disposable tips and changing them after each sample.
- 9) Do not mix reagents of different batches. Please use the product within the validity period.
- 10) Do not eat, drink, smoke, apply cosmetics or handle contact lenses in areas where reagents and human specimens are handled.
- 11) Results should be interpreted by a trained professional in conjunction with the patient's history and clinical signs and symptoms, and epidemiological risk factors.
- 12) Ensure laboratory equipment is calibrated and maintained in accordance with the laboratory's procedure.
- 13) When test results are transmitted from the laboratory to an informatics centre, attention has to be done to avoid erroneous data transfer.

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.

ORDER INFORMATION

Product	Format	Packaging	Ref.
VRE Broth	Tube	20 x 10 ml	24087

Revision History

Revision	Release Date	Change Summary
0	2025-01-08	Document creation
1	2025-09-08	Updated layout and content in compliance with IVDR 2017/746

In case of malfunctions or defects, contact immediately Liofilchem (*) or the local representative.

In case of incident associated with the device, notify immediately Liofilchem (*) or its local representative and the National Competent Authority.

*Please login to <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID and password required) and click on Complaint.

This IFU document and the SDS are available from the online Support Center:

liofilchem.com/ifu-sds



Fig 1. *E. faecalis* WDCM 00152 after 48h (a) and 24h (b) incubation: positive test;
E. faecalis WDCM 00087 (c) after 48h incubation: negative test.



VRE Broth

Terreno di arricchimento per il rilevamento di enterococchi resistenti alla vancomicina

USO PREVISTO

Il VRE broth è un terreno di arricchimento selettivo utilizzato nelle procedure di screening, isolamento e coltivazione di enterococchi resistenti alla vancomicina. Il terreno è inteso come ausilio alla diagnosi, e richiede ulteriori test per completare i risultati diagnostici.

DESCRIZIONE

Gli enterococchi hanno sviluppato una varietà di meccanismi di resistenza a diversi antibiotici, inclusi glicopeptidi come vancomicina e teicoplanina. La resistenza ai glicopeptidi è mediata dall'operone Van, che può essere trasportato da cromosomi o su un plasmide extracromosomiale; vanA, vanB e VanC sono i geni più comunemente identificati. VanA è trasmesso tramite un plasmide, conferisce un'elevata resistenza (MIC, >256 µg/ml) alla vancomicina ed è maggiormente associato a *E. faecium* ed *E. faecalis*, mentre VanC, codificato cromosomicamente, conferisce una bassa resistenza (MIC, da 8 a 32 µg/ml) alla vancomicina ed è presente quasi esclusivamente in *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* ed *E. flavescens*.

Il brodo VRE può essere utilizzato come brodo di arricchimento prima della semina per contrastare la diffusione della resistenza ai glicopeptidi. La combinazione dell'inoculazione diretta su piastre di agar e del brodo di arricchimento consente un rapido rilevamento degli enterococchi resistenti alla vancomicina e allo stesso tempo garantisce la capacità di rilevare i portatori di VRE con basse concentrazioni di VRE nel tratto digerente.

FORMULA TIPICA* (Per litro di acqua purificata)

Tryptone	17.0 g
Estratto di carne	3.0 g
Estratto di lievito	5.0 g
Fiele di bue	10.0 g
Cloruro di sodio	5.0 g
Citrato di sodio	1.0 g
Esculina	1.0 g
Citrato di ammonio ferrico	0.5 g
Sodio Azide	0.25 g
Vancomicina	1.0 mg
Final pH 7.1 ± 0.2 at 25°C	

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

PRINCIPIO DEL METODO

Il triptone e l'estratto di carne sono una fonte di azoto prontamente disponibile per la crescita batterica. Il triptone è un prodotto ottenuto mediante idrolisi enzimatica controllata della caseina e contiene una miscela di peptidi e aminoacidi liberi. L'estratto di lievito è una fonte di aminoacidi e vitamine del gruppo B. Il cloruro di sodio mantiene l'equilibrio osmotico del terreno. La bile di bue è bile di bue purificata e disidratata. Contiene una miscela di sali biliari. L'esculina è un glucoside che si combina con il citrato ferrico nel terreno per formare un complesso di colore marrone scuro o nero. L'azide di sodio inibisce i batteri Gram-negativi. La combinazione di esculina, bile e azide consente la selezione e la differenziazione degli enterococchi mediante idrolisi dell'esculina. La vancomicina è efficace contro i batteri Gram-positivi, ad eccezione degli enterococchi resistenti alla vancomicina.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Forniture e apparecchiature microbiologiche standard come: anse di inoculazione, tamponi di cotone sterili, soluzione fisiologica, incubatore, organismi di controllo qualità.

CAMPIONI CLINICI

Il brodo viene inoculato da feci e tamponi rettali.

I campioni clinici devono essere campionati nella fase acuta, prima della terapia antimicrobica (ove possibile) ed esaminati il prima possibile dopo la raccolta.

Si raccomanda di applicare le buone pratiche di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici. Per ulteriori informazioni sulla raccolta e la preparazione dei campioni, fare riferimento alle linee guida specifiche.

PROCEDURA DEL TEST

Inoculare il terreno con il campione.

Incubare a 35 ± 2 °C per 24-48 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Osservare la crescita e il cambiamento di colore del terreno.

La torbidità e l'annerimento del brodo (rispetto a un controllo non inoculato) indicano la presenza di *Enterococcus* spp.

Trasferire le colture in terreni solidi idonei per l'identificazione e la caratterizzazione complete delle colonie isolate.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C al riparo dalla luce. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta o se presenta segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

4 mesi.

CONTROLLO QUALITÀ

Aspetto del Terreno Preparato: Trasparente, da giallo/giallo-verde a beige.

Risultati Attesi dei Test Culturali:

Ceppi di controllo	Inoculo	Incubazione	Specifiche
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00152 (ATCC® 51299; NCTC 13379)	≤ 100 CFU	24-48 h/ 35 ± 2°C	Buona crescita, torbidità Reazione positiva: annerimento del brodo
<i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009 (ATCC® 19433; NCTC 775)	> 10 ³ CFU		Crescita inibita
<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013 (ATCC® 25922; NCTC 12241)			Crescita inibita

Fare riferimento al certificato di analisi (CoA) relativo al lotto effettivo.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I test di performance del brodo VRE sono stati effettuati utilizzando i ceppi QC elencati sopra. I risultati ottenuti hanno soddisfatto i criteri stabiliti. Ulteriori test sono stati eseguiti utilizzando campioni clinici. In uno studio condotto con 44 tamponi rettali (41 campioni negativi e 3 *E. faecium* vanA) e 18 campioni arricchiti, non si sono verificate discrepanze o crescite microbiche inattese utilizzando sia il brodo VRE che il brodo Brain Heart Infusion (BHI) con 30 µg di vancomicina. In un altro studio, campioni diluiti e non diluiti costituiti da 4 tamponi rettali, 1 campione di feci e 3 ceppi di controllo sono stati testati sia con il brodo VRE Liofilchem sia con un brodo equivalente di un altro produttore (metodo di riferimento), mostrando una concordanza del 100% (10 *E. faecium* resistenti alla vancomicina e 5 campioni negativi su 15 test eseguiti) tra i due metodi.

LIMITAZIONI

Risultati non validi possono essere causati da una scarsa qualità del campione, da una raccolta impropria del campione, da un trasporto inadeguato, da un'elaborazione inadeguata da parte del laboratorio o da una limitazione della tecnologia di analisi. L'operatore deve comprendere i principi delle procedure, inclusi i limiti prestazionali, prima dell'operazione per evitare potenziali errori.

La crescita dipende dalle esigenze di ogni singolo microrganismo. È quindi possibile che alcuni ceppi che hanno esigenze specifiche (substrato, temperatura, condizioni di incubazione, ecc.) non si sviluppino.

Potrebbero esserci sostanze interferenti o contaminanti introdotti inavvertitamente nel campione che potrebbero inibire la crescita dei ceppi VRE nel brodo.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- 1) **Per uso diagnostico in vitro (IVD).**
- 2) **Solo per uso professionale di laboratorio.**
- 3) Gli operatori devono essere formati e avere una certa esperienza. Si prega di leggere attentamente le istruzioni prima di utilizzare il prodotto. L'affidabilità dei risultati del test non può essere garantita in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute in questo documento.
- 4) Consultare la scheda di sicurezza (SDS) per informazioni sui pericoli e sulle pratiche di manipolazione sicure.
- 5) Non utilizzare se il prodotto o la confezione sembrano danneggiati.
- 6) Seguire le precauzioni standard. Tutti i campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infetti e maneggiati di conseguenza.
- 7) Maneggiare tutti i campioni come infetti utilizzando procedure di laboratorio sicure. Smaltire materiali pericolosi o biologicamente contaminati secondo le pratiche del proprio istituto.
- 8) Evitare la contaminazione incrociata dei campioni utilizzando puntali monouso e sostituendole dopo ogni campione.
- 9) Non mescolare reagenti di lotti diversi. Si prega di utilizzare il prodotto entro il periodo di validità.
- 10) Non mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o maneggiare lenti a contatto nelle aree in cui vengono manipolati reagenti e campioni umani.
- 11) I risultati devono essere interpretati da un professionista qualificato insieme alla storia del paziente, ai segni e sintomi clinici e ai fattori di rischio epidemiologici.
- 12) Assicurarsi che le apparecchiature di laboratorio siano calibrate e mantenute in conformità con la procedura del laboratorio.
- 13) Quando i risultati dei test vengono trasmessi dal laboratorio a un centro informatico, è necessario prestare attenzione per evitare trasferimenti di dati errati.

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.

Vedere le configurazioni disponibili di questo prodotto nella lingua inglese.

In caso di malfunzionamenti o difetti, contattare immediatamente Liofilchem (*) o il rappresentante locale.

In caso di incidente associato al dispositivo, avvisare immediatamente Liofilchem (*) o il suo rappresentante locale e l'Autorità Nazionale Competente.

*Si prega di effettuare il login su <https://www.liofilchemstore.it/login.php> (user ID e password richiesti) e cliccare su "Complaint".

Questo documento IFU e la SDS sono disponibili dal Support Center online:

[liofilchem.com/ifu-sds](https://www.liofilchem.com/ifu-sds)

References / Riferimenti

1. Faron ML, Ledebor NA, Buchan BW. Resistance Mechanisms, Epidemiology, and Approaches to Screening for Vancomycin-Resistant Enterococcus in the Health Care Setting. J Clin Microbiol. 2016 Oct.
2. Bridson, E.Y. The Oxoid Manual, 9th Edition. 2006. Oxoid Limited, Basingstoke
3. Guidelines for Assuring Quality of Medical Microbiological Culture Media. 1996. Quality Control of Media Special Interest Group, Australian Society for Microbiology.
4. Miller WR., Murray BE., Rice LB., Arias CA. - Resistance in Vancomycin-Resistant Enterococci. - Infectious disease clinics of North America - 2020;34(4):751-771.
5. Ahmed MO., Baptiste KE. - Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. - Microbial drug resistance (Larchmont, NY) - 2018;24(5):590-606.
6. Yesim Cetinkaya, Pamela Kalk et al. – Vancomycin Resistant Enterococci. – Clinical Microbiology Reviews, October 2000, p. 686-707, Vol. 13, No. 4.
7. Baldwin Towe, Josee Shymanski et al. – Clinical and epidemiologic Significance of Enterococci Intrinsically resistant to Vancomycin. – Journal of clinical Microbiology, Dec. 1997, p. 3166-3170

Table of Symbols / Tabella dei Simboli

	Batch code / Codice lotto
	Catalogue number / Numero di catalogo
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device / Dispositivo Medico Diagnostico <i>in vitro</i>
	Manufacturer / Fabbrikante
	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 sunlight / Tenere al riparo dalla luce solare



Liofilchem® s.r.l.

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

www.liofilchem.com

liofilchem@liofilchem.com

