

chromID™ VRE Agar

IVD

Хромогенный селективный агар для определения штаммов *Enterococcus faecium* и *E. faecalis* с приобретенной устойчивостью к ванкомицину (VRE)**КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ**

Хромогенный селективный агар chromID™ VRE предназначен для определения штаммов *E. faecium* и *E. faecalis* с приобретенной устойчивостью к ванкомицину (VRE) у пациентов группы риска (1).

Агар chromID™ VRE позволяет дифференцировать штаммы *Enterococcus faecium* и *E. faecalis*.

Штаммы *E. faecium* и *E. faecalis* с приобретенной устойчивостью к ванкомицину (в основном, генотипы *vanA* и *vanB*) обладают полирезистентностью и являются частыми возбудителями внутрибольничных инфекций (2). Определение таких штаммов имеет большое значение в предотвращении вызываемых ими внутрибольничных инфекций, а также в предотвращении возникновения ванкомицин-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus* (VRSA) в результате переноса гена *vanA* (3, 4).

Данный агар не является заменой традиционных методов определения чувствительности бактерий к антимикробным препаратам.

PRINCIPLE

Агар chromID™ VRE (патент регистрируется) имеет богатую питательную основу из нескольких пептонов и содержит два хромогенных субстрата и смесь антибиотиков, в том числе ванкомицин (8 мг/л), что обеспечивает:

- селективное выделение штаммов VRE.
- прямое определение и дифференциацию штаммов *E. faecium* и *E. faecalis* по характерному окрашиванию колоний.
 - *E. faecium*: фиолетовая окраска колоний штаммов, продуцирующих β-галактозидазу,
 - *E. faecalis*: голубовато-зеленая окраска колоний штаммов, продуцирующих α-глюкозидазу.

Селективная смесь ингибирует рост:

- штаммов энтерококков, не имеющих приобретенной устойчивости к ванкомицину,
- штаммов энтерококков, имеющих природную устойчивость к ванкомицину (генотип *vanC*: *E. gallinarum* и *E. casseliflavus*),
- большинства грамотрицательных бактерий, других грамположительных бактерий, дрожжей, плесеней.

СОСТАВ НАБОРА

REF 43 004	Готовая к использованию среда:
	Упаковка, 20 чашек (90 мм)
	VRE *

* маркировка на каждой чашке

СОСТАВ СРЕДЫ**Расчетный состав**

Среду можно модифицировать в соответствии с целями исследования:

Казеин и мясной пептон (бычьи и свиные).....	18 г
Сердечный экстракт (бычий или свиной)	3 г
Кукурузный крахмал.....	1 г
Натрия хлорид	6 г
Агар.....	15.0 г
Смесь хромогенных субстратов.....	0.12 г
Селективная смесь	52.3 мг
Очищенная вода	1 л

pH 7.2

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Термостат.
- Диски с ванкомицином (30 µg).
- Сердечно-мозговой бульон (Ref. 42 081) (пробирки по 9 мл).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- **Для лабораторной диагностики.**
- **Для профессионального использования.**
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных, от которых были получены данные вещества, не дает полной гарантии отсутствия трансмиссивных патогенных агентов. Обращайтесь с этими веществами как с потенциально инфекционными, соблюдая обычные меры предосторожности (не вдыхайте, не глотайте).
- Все образцы, микробные культуры и загрязненные ими материалы следует считать инфекционными и обращаться с ними соответствующим образом. При работе с культурами микроорганизмов следует соблюдать правила стерильности и общие меры предосторожности. См. документ "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – действующая версия". За дополнительной информацией о мерах предосторожности обращайтесь к документу "*Biosafety in Microbiological and Biochemical Laboratories* - CDC/NIH – последнее издание", или законодательству Вашей страны.
- Не используйте среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Не используйте по истечении срока годности.
- Не используйте, если упаковка повреждена.
- Не используйте чашки со следами контаминации и/или испарений.
- Люди, плохо различающие цвета, могут испытывать трудности при работе с данной средой.

- Засевайте не более одного образца на одну чашку.
- Учет и интерпретацию результатов следует проводить только на изолированных колониях.
- В агаре может образовываться незначительный осадок или светлые ореолы, но это не влияет на его рабочие характеристики.
- При интерпретации результатов следует принимать во внимание морфологию колоний, данные микроскопии, и, при необходимости, результаты других тестов.

ХРАНИЕ

- Чашки следует хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности.
- После вскрытия коробки чашки следует хранить не более 2 недель в целлофановом пакете при температуре 2-8°C в темноте.

ОБРАЗЦЫ

Возможен посев различных образцов: фекалий, ректальных мазков.

Образцы следует вносить на чашку необработанными или, для оптимального определения энтерококков с генотипом *vanB*, после обогащения в бульоне (см. инструкцию по использованию бульона).

Примечания:

- Для взятия мазка рекомендуется использовать тампон (желательно, флокированный) и жидкую транспортную среду для оптимизации выделения штаммов VRE.
- Рост VRE может ингибироваться, если пациент перед анализом использовал препараты, содержащие антисептические вещества, например, натрия гидроксид или хлоргексидина глюконат.

При взятии и транспортировке образцов следует соблюдать правила надлежащей лабораторной практики, адаптированные к типам используемых образцов.

ПРИМЕНЕНИЕ

Среду не следует подвергать воздействию света, кроме этапов посева и учета результата.

1. Выдержите чашки до достижения комнатной температуры.
2. Произведите посев:
 - необработанного образца на агар chromID™ VRE
 - или образца после обогащения (18-24 часа при 37°C) в сердечно-мозговом бульоне (Ref. 42 081), содержащем 3.3 мг/л ванкомицина (концентрация, получаемая при внесении в среду диска с ванкомицином 30 µg).
3. Инкубируйте чашки в аэробных условиях в темноте вверх дном при 37°C. Учет результатов, как правило, проводят через 24 часа. При получении отрицательного результата (отсутствие роста или окраски) время инкубации следует продлить еще на 24 часа.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТА

По окончании инкубации оцените бактериальный рост и цвет изолированных колоний. Штаммы *E. faecium* и *E. faecalis* с приобретенной устойчивостью к ванкомицину (VRE) формируют характерные колонии:

- штаммы *E. faecium*: фиолетовые колонии,
- штаммы *E. faecalis*: зелено-голубые колонии.

Необходимо убедиться, что характерные колонии образованы грамположительными кокками.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Протокол:

Для контроля питательных и селективных свойств среды можно использовать следующие штаммы:

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

Диапазон ожидаемых результатов:

Штамм	Результат при 33-37°C
<i>Enterococcus faecium</i> (<i>vanA</i>) ATCC® 700221	Фиолетовые колонии в течение 24 часов
<i>Enterococcus faecalis</i> (<i>vanB</i>) ATCC® 51299	Зелено-голубые колонии в течение 24 часов
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Ингибирование роста в течение 48 часов

Примечание:

Контроль качества следует проводить в соответствии с назначением среды, а также применимыми законодательными нормами (частота, количество штаммов, температура культивирования, прочее).

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Очень редкие штаммы *E. gallinarum* и *E. hirae* с приобретенной устойчивостью к ванкомицину растут на агаре chromID VRE с образованием характерных фиолетовых колоний.
- Некоторые другие микроорганизмы, кроме энтерококков (в том числе дрожжи, грамотрицательные палочки, *Pediococcus*) могут расти на данном агаре с образованием характерных колоний, но эти колонии, как правило, морфологически отличны от колоний энтерококков.
- Рост штамма зависит от его индивидуальных ростовых потребностей. Поэтому некоторые штаммы *E. faecium* или *E. faecalis* с приобретенной устойчивостью к ванкомицину (VRE), имеющие специфические ростовые потребности (субстрат, температура, прочие условия инкубации), могут не образовать типичных колоний на данной среде.
- Через 48 часов инкубации возможно образование характерно окрашенных колоний чувствительными к ванкомицину штаммами *E. faecium* и *E. faecalis*, если посев был произведен из образца (без обогащения) с высокой концентрацией возбудителя.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Проводилось сравнение результатов, полученных на агаре chromID™ VRE (ref. 43004) и на агаре chromID™ VRE (ref. 43002) через 18-24 (D1) часа и 48 (D2) часов инкубации.

Исследования проводились в Канаде и Германии, с использованием 540 клинических образцов (фекалии и ректальные мазки). Посев производили из нативных образцов или после обогащения в сердечно-мозговом бульоне с добавлением диска с ванкомицином в течение 18-24 часов. Чашки инкубировали при 37°C. Из 62 образцов был получен рост (штаммы *E. faecium* *vanA* и *vanB*), по меньшей мере, на одной из сред.

Примечание: все выделенные штаммы VRE принадлежали к виду *E. faecium*. Внутреннее исследование с использованием коллекционных штаммов *E. faecalis* показало, что чувствительность определения штаммов *E. faecalis* эквивалентна чувствительности определения штаммов *E. faecium*.

Результаты без стадии обогащения

Чувствительность определения VRE (доверительный интервал 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

Специфичность (доверительный интервал 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

Результаты после селективного обогащения (см. инструкцию по применению бульона для обогащения)

Чувствительность определения VRE (доверительный интервал 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

Специфичность (доверительный интервал 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

* Специфичность агара chromID VRE (Ref. 43004) существенно выше, чем у chromID VRE (Ref. 43002).

Отрицательная прогностическая ценность в зависимости от используемого метода

	chromID™ VRE (ref. 43004)		chromID™ VRE (ref. 43002)	
	Посев нативного образца	Посев после обогащения в сердечно-мозговом бульоне	Посев нативного образца	Посев после обогащения в сердечно-мозговом бульоне
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]

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Утилизируйте использованные и неиспользованные среды, а также любые контаминированные материалы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.

Сотрудники лаборатории несут ответственность за утилизацию отходов в соответствии с их типом и классом опасности, согласно действующим нормам и правилам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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

ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Для диагностики in-vitro
	Произведено
	Температурные ограничения
	Использовать до
	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Содержимого достаточно для <n> тестов
	Беречь от света

BIOMERIEUX, логотип BIOMERIEUX, и CHROMID являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний.

CLSI – зарегистрированная торговая марка Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.).

Любая другая торговая марка или название принадлежат соответствующему владельцу.