

# CHROMAGAR VRE

## NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRETS A L'EMPLOI

### 1. Utilisation

La gélose CHROMagar VRE est un milieu chromogène sélectif conçu pour la détection qualitative et l'isolement des *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* résistants à la vancomycine (VRE -Vancomycin-Resistant Entrococcus) dans les échantillons cliniques humains et autres échantillons.

La fonction du milieu CHROMagar VRE est d'aider au diagnostic chez les patients présentant des symptômes indiquant une infection bactérienne à Gram positif, ainsi qu'au dépistage, de prévoir la présence d'un mécanisme de résistance et de prévoir la réponse au traitement.

Le genre *Enterococcus* comprend des agents pathogènes opportunistes qui peuvent provoquer des infections en dehors de leur habitat physiologique, en particulier chez les personnes dont le système immunitaire est affaibli. Ces bactéries peuvent provoquer des infections des voies urinaires, des lésions, des bactériémies et des endocardites. Ces bactéries sont souvent isolées chez des patients souffrant d'infections intra-abdominales multibactériennes. Deux espèces sont le plus souvent isolées : *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Les espèces moins fréquemment isolées sont : *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus raffinosus* et *Enterococcus hirrae*. *Enterococcus faecalis* est plus susceptible de provoquer des maladies abdominales, tandis qu'*Enterococcus faecium* est à l'origine d'infections des voies urinaires et des plaies.

La résistance croissante des micro-organismes aux antibiotiques devient un défi pour la médecine moderne. Dans le cas des entérocoques, les souches résistantes à la vancomycine (VRE -Vancomycin-Resistant Entrococcus) sont particulièrement dangereuses. En fonction du type de résistance, les entérocoques peuvent être divisés en deux groupes. Le premier groupe comprend *E. gallinarum* et *E. casseliflavus*/*E. flavescens* présentant ce que l'on appelle une résistance intrinsèque (type de résistance Van C, Van D, Van E, Van F), caractérisée par une résistance réduite à la vancomycine. Le deuxième groupe comprend les entérocoques caractérisés par une résistance acquise à la vancomycine (types de résistance Van A et Van B). Ce type de résistance est le plus souvent observé chez *E. faecium* et *E. faecalis* et peut être transmis à d'autres pathogènes virulents tels que *S. aureus*. Le portage d'entérocoques résistants à la vancomycine affecte un petit pourcentage de patients hospitalisés et est particulièrement élevé chez les patients des unités d'hématologie. De plus en plus, des souches multirésistantes sont isolées non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires. L'identification rapide d'*E. faecium* et d'*E. faecalis* résistants à la vancomycine est donc très importante. Étant donné que ces micro-organismes font partie du microbiome humain, il est important de détecter le portage de ces micro-organismes chez les patients, principalement à des fins épidémiologiques et pour prévenir la propagation des infections nosocomiales.

Référence	Type de milieu :	Emballage :
201460	Boîte de gélose précoulée prêt à l'emploi	2 x 10 pcs (90 mm)

### 2. Principe du milieu

La peptone et l'extrait de levure fournissent de l'azote et des vitamines dans le milieu CHROMagar VRE. Le mélange sélectif inhibe la croissance de la plupart des bactéries. Le mélange chromogène permet de détecter et de différencier les *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* résistants à la vancomycine avec les types de résistance Van A et Van B des autres micro-organismes, y compris les entérocoques avec une résistance intrinsèque à la vancomycine.

### 3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :		Suppléments/litre	
Agar	15,0 g	Mélange sélectif	0,06 g
Peptone et extrait de levure	20,0 g		
Sels	5,0 g		
Mélange chromogène	27,3 g		

pH 6,9± 0,2 à 25° C.

Aspect du milieu - milieu blanc homogène

### 4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Amener le milieu à température ambiante immédiatement avant utilisation

## 5. Matériel nécessaire, non fourni

Équipement standard de laboratoire microbiologique nécessaire aux tests, y compris un incubateur.

## 6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.
- Le milieu contient des composants d'origine animale qui peuvent être associés à la présence d'agents biologiques pathogènes. Il doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation du matériel biologique potentiellement infectieux.
- Ne pas utiliser les boîtes si le support présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser de boîtes après la date de péremption.
- La réincubation de boîtes déjàensemencées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivez ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans ce manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

## 7. Stockage

Conserver les boîtes à une température comprise entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter la congélation de la gélose, ne pas conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

## 8. Péremption

Le milieu conservé à une température comprise entre 2-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à partir de la date de fabrication

## 9. Type d'échantillon

Échantillons cliniques humains tels que les matières fécales, les écouvillons rectaux et autres échantillons. Prélever les échantillons conformément aux lignes directrices en vigueur. Conserver les échantillons jusqu'à leur livraison au laboratoire conformément aux lignes directrices relatives au stockage et au transport du matériel biologique. Conserver les écouvillons collectés dans des milieux de transport à température ambiante, conformément aux recommandations du fabricant du milieu. Conserver les échantillons de selles dans un réfrigérateur à une température de 2-8°C. Inoculer les échantillons dès que possible après la livraison au laboratoire.

## 10. Procédure de test

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon est prélevé sur un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste autour des bords de la boîte, puis inoculer l'échantillon à l'aide d'une anse stérile en utilisant la méthode des stries..
4. Incuber la boîte inoculée à 35±2°C.
5. Vérifier la croissance après 18-24 heures d'incubation.

## 11. Lecture et interprétation

Après incubation, observer :

- la présence de colonies bactériennes,
- la morphologie des colonies,
- la coloration des colonies

Morphologie typique des colonies cultivées sur le milieu CHROMagar VRE :

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie
<i>Enterococcus faecium</i> Souche résistante à la vancomycine	Colonies petites, bord entier, rose à mauve
<i>Enterococcus faecalis</i> Souche résistante à la vancomycine	Colonies petites, bord entier, rose à mauve
<i>Enterococcus gallinarum</i> Souche résistante à la vancomycine	Colonies petites, bord entier, croissance bleue ou inhibée
<i>Enterococcus casseliflavus</i> Souche résistante à la vancomycine	Colonies petites, bord entier, croissance bleue ou inhibée
Autres bactéries Gram-positives	Pas de croissance
Bactéries Gram-négatives	Pas de croissance
Levures et moisissures	Pas de croissance pour la plupart

Pour l'identification définitive des micro-organismes en culture, des tests supplémentaires et/ou des tests d'identification doivent être effectués à l'aide d'autres méthodes utilisées en laboratoire.



Morphologie des colonies et schéma de croissance d'*Enterococcus faecalis* sur CHROMagar VRE

## 12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et la sélectivité du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant les réactions positives et négatives attendues. Le test doit être effectué à l'aide de cultures pures de 18 à 24 heures de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle qualité du milieu :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	Bonne croissance	Petit, mauve, bord entier
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Pas de croissance	-

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions du laboratoire. Les procédures de contrôle qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et lignes directrices/recommandations applicables.

## 13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins en nutriments, certaines souches peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur le milieu CHROMagar VRE.
- Le type de résistance doit être déterminé et confirmé par des tests supplémentaires
- Certaines souches rares de *Lactobacilli*, *Pediococcus* peuvent produire des colonies violet clair sur le milieu CHROMagar VRE. Il est toutefois possible de les distinguer sur la base du test PYR : une réaction PYR positive indique la présence

d'entérocoques de type VRE résistant, tandis qu'une réaction négative au test PYR indique la présence de *Lactobacilli*, *Pediococcus*.

- Après une incubation de 24 heures, certaines souches rares d'*E. gallinarum* peuvent parfois produire des colonies rose-violet.

#### 14. Caractéristiques de la méthode

Sur des milieux de base tels que la gélose à l'esculine biliaire avec vancomycine, il n'est pas possible de différencier *E. faecalis* et *E. faecium*. En outre, des faux positifs peuvent souvent être obtenus en raison de la présence d'autres bactéries hydrolysant l'esculine, par exemple *Lastococcu spp.* et *Pediococcus spp.*

L'étude comparative présentée par P. Kornherr et ses collègues montre que la sensibilité et la spécificité du milieu CHROMagar VRE sont respectivement de 95,5 % et 90,4 %. En comparaison, avec la méthode de référence (VRE Select), la sensibilité et la spécificité sont respectivement de 68,2 % et 91,8 %. L'étude a utilisé 95 écouvillons rectaux qui ont été incubés pendant 24 heures à 35-37°C.

	CHROMagar VRE	Méthode de référence (Sélection de VRE)
Sensibilité	95,5% *	68,2%*
Spécificité	90,4% *	91,8%*

\* Les données proviennent de l'étude "Evaluation of Three Chromogenic Media for Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci in a tertiary-care Hospital" M.L. Miller et Al. CACMID 2011

#### 15. Élimination des milieux usagés

Les milieux usagés et non utilisés doivent être éliminés conformément à la réglementation en vigueur sur les déchets médicaux et aux procédures de laboratoire pour l'élimination des matières infectieuses et potentiellement infectieuses.

#### 16. Déclaration des événements indésirables

Conformément à la réglementation en vigueur, les événements et incidents indésirables qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être notifiés au fabricant et aux autorités compétentes

#### 17. Références

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 Detecion de Enterococos Resistentes a Vancominica (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, Josefina Weber-Heynemann, Rudolf Luticken 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-esculine 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. 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).
10. 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.
11. Massoud Hajia1,2, Mohammad Rahbar1,2\* 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.
12. 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
13. 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
  14. Petra Lüthje, Arthur B. Pranada, Duncan Carruthers-Lay, Marc Desjardins, Olivier Gaillot, David Wareham , Holly Ciesielczuk, Volkan Özenci, 2017, Identification of microorganisms grown on chromogenic media by MALDI-TOF MS.
  15. Fyodorova A.V., Klyasova G.A. National Medical Research Center of Hematology, Moscow, Russia, 2018, Detection of vancomycin-resistant enterococci using chromogenic selective medium.




### Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
14/04/2023	Document complet	Adaptation aux exigences du règlement (UE) 2017/746

### NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les changements éditoriaux.

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date à laquelle le dispositif médical a été fabriqué	5.1.3
	Numéro de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin de permettre l'identification du lot.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2
	Suffisantes pour <n> tests	Indique le nombre total de tests qui peuvent être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit pas être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Conformité avec les exigences de l'UE)	Le marquage CE apposé sur un produit est une déclaration du fabricant selon laquelle le produit est conforme aux exigences essentielles de la réglementation de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	nd.
	Consultez la notice d'utilisation	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3

	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptiques	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué en utilisant des techniques aseptiques reconnues.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter la notice d'utilisation pour obtenir des informations sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical contenant des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale.	5.4.8




Graso Zenon Sobiecki  
Krag 4A ; 83200 Starogard Gdański  
[www.grasobiotech.pl](http://www.grasobiotech.pl)

Département de la production  
Leśna 1, Owidz  
83-211 Jabłowo