

ISTRUZIONI PER L'USO

TRICHOMONAS CPLM SELECTIVE BROTH

Provette pronte all'uso


T. vaginalis: esame microscopico
Medical Laboratory/Technologist Channel

1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno liquido per l'isolamento e la coltivazione di *Trichomonas vaginalis* da campioni clinici con flora mista.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Triptone	20,000 g
Estratto di fegato	5,000 g
Cisteina HCl	1,500 g
Maltosio	1,000 g
Agar	0,500 g
Blu di metilene	0,003 g
Cloramfenicolo	0,100 g
Siero di cavallo	50 mL
Acqua purificata	950 mL

*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Trichomonas vaginalis è un flagellato che vive sulla superficie dell'epitelio del tratto urogenitale. Produce tricomoniasi nelle donne, mentre negli uomini l'infezione può essere asintomatica o avere caratteristiche di uretrite, epididimite e prostatite. L'infezione da *Trichomonas vaginalis* è la più comune infezione non virale a trasmissione sessuale.¹ Nel mondo si registrano circa 250 milioni di casi di infezione da *Trichomonas* ogni anno, con una prevalenza complessiva stimata del 4,5%.

La coltura ha una sensibilità maggiore (> 80%) rispetto al metodo dell'osservazione microscopica a fresco ed è considerata il gold standard per la rilevazione di *T. vaginalis*.²

Trichomonas CPLM (Cysteine-Peptone-Liver-Maltose Medium) Selective Broth è una modifica del terreno STS di Kupferberg et al. per la coltivazione di *Trichomonas* spp.³ La formula classica è stata modificata con l'aggiunta di estratto di fegato e siero di cavallo per migliorarne le prestazioni.

Il triptone e l'estratto di fegato forniscono carbonio, azoto, vitamine e minerali per supportare la crescita di *Trichomonas*; il maltosio è una fonte di energia per la crescita microbica. Il cloramfenicolo, un antibiotico relativamente stabile, sostituisce la penicillina e la streptomicina incluse nel terreno STS e sopprime la crescita della maggior parte dei batteri Gram-positivi e Gram-negativi. Il siero di cavallo è incluso per fornire fattori di crescita utili per *Trichomonas*. Cisteina ed agar a bassa concentrazione creano condizioni riducenti nel terreno che favoriscono lo sviluppo di *Trichomonas*. Il blu di metilene è incluso come indicatore di ossidoriduzione: allo stato ossidato è di colore verde, allo stato ridotto è incolore.

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in provetta
pH (20-25°C)

giallo, con anello verde, limpido.
6,0 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Trichomonas CPLM Selective Broth W0104050199, EDMA: 14.05.01.90, RDM:1514993/R	Provette pronte all'uso	5513311	20 x 9 mL. Provette di vetro 17x125 mm, con fondo piatto e tappo a vite; confezionamento in scatola di cartone.

6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, microscopio, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

Nelle donne, le secrezioni vaginali sono il tipo di campione preferito per la coltura, poiché la determinazione sulle urine è meno sensibile. Negli uomini, i campioni per la coltura sono tampone uretrale, sedimento urinario e/o sperma; per migliorare la resa, è possibile utilizzare più campioni maschili per inoculare una singola provetta.⁴ I campioni devono essere raccolti correttamente e inoculati immediatamente nel terreno. Per informazioni dettagliate, consultare i testi appropriati.⁴⁻⁶ Raccogliere i campioni prima della terapia antimicrobica, quando possibile.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le provette a temperatura ambiente o preferibilmente a 37°C. Inoculare il terreno scaricando il tampone con cui si è raccolto il campione o con appropriati metodi alternativi.

Incubare le provette a 35 ± 2°C in atmosfera aerobica per 2-7 giorni.

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo 48 ore di incubazione e di nuovo giornalmente, rimuovere asetticamente una goccia di coltura e posizionarla su un vetrino e coprire con un vetrino copri-oggetto. Esaminare al microscopio con ingrandimento 100x-400x. Non mescolare la coltura, ma rimuovere il materiale dal fondo della provetta, con una pipetta sterile.





Una coltura positiva è definita dalla visualizzazione di trofozoiti con morfologia (a forma di pera) e motilità (a foglia cadente) caratteristiche di *T. vaginalis*.

Il risultato negativo è definito dall'assenza di *Trichomonas mobili* dopo 7 giorni di incubazione.

10 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE (T° / t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>T. vaginalis</i> ATCC 30001	35-37 °C / fino a 72h / A	osservazione di forme tipiche mobili
<i>C. albicans</i> ATCC 18804	35-37 °C / fino a 72h / A	crescita
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37 °C / fino a 72h / A	inibito

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di provette pronte all'uso di *Trichomonas CPLM Selective Broth* sono testati per la produttività e la selettività.

La produttività è valutata inoculando cellule vitali di *T. vaginalis* ATCC 30001 nelle provette e incubando a 35-37°C per un massimo di 72 ore. L'esame microscopico con ingrandimento 400x mostrerà la presenza di trofozoiti mobili.

La produttività viene anche testata inoculando opportune diluizioni decimali di *C. albicans* ATCC18804 e incubando a 35-37°C per un massimo di 72 ore. Dopo l'incubazione *C. albicans* crescerà sviluppando torbidità nel brodo.

La selettività è testata inoculando più di 1000 UFC dei ceppi non-target *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923 ed incubando a 35-37°C per un massimo di 72 ore. Non si deve osservare torbidità nel brodo.

12 - LIMITI DEL METODO

- *T. vaginalis* può crescere senza produrre evidenti segni di torbidità nel terreno di coltura.
- La coltura ha una sensibilità del 75% -96% e una specificità fino al 100%^{4,7}. Un risultato negativo deve essere considerato con cautela e valutato insieme ai sintomi clinici.
- Il terreno non contiene agenti antimicotici quindi lieviti come *Candida* spp. possono crescere nei tubi inoculati con i campioni.
- Anche se il brodo contiene cloramfenicolo per ridurre la contaminazione da flora vaginale, la contaminazione da batteri può costituire un problema. Potrebbe essere necessario una sub-coltura delle colture dopo 2-3 giorni di incubazione per ridurre la contaminazione batterica e per identificare definitivamente *T. vaginalis*.
- A causa della natura fastidiosa di *T. vaginalis*, la coltura rimarrà vitale per un breve periodo di tempo dopo aver raggiunto la fase stazionaria.
- Il terreno qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati dei test microscopici e/o di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola provetta del prodotto qui descritto è monouso. Non suddividere il contenuto delle provette.
- Fare attenzione quando si aprono le provette con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Il prodotto qui descritto è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave a vapore.
- Sterilizzare le provette dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le provette non utilizzate e le provette seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare le provette oltre la data di scadenza. Dopo l'apertura della scatola, le provette possono essere utilizzate fino alla data di scadenza. Le provette aperte devono essere utilizzate immediatamente. Prima dell'uso verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare le provette se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato).



**15 - BIBLIOGRAFIA**

1. McConnaughey M. Life Cycle of Parasites. Reference Module in Biomedical Sciences, 2014.
2. Novak-Weekley SN, Leber AL. Intestinal and urogenital amebae, flagellates and ciliates. In Carrol KC, Pfaller MA *et al.* editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
3. Kupferberg AB, Johnson G, Sprince H. 1948. Nutritional requirements of *Trichomonas vaginalis*. Proc Soc Exp Biol Med 1948;67:304-308.
4. Centers of Disease Control and Prevention, 2015 Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. June 4, 2015.
5. Shimizu RY, Garcia LD. Specimen collection, transport, and processing: parasitology. In Carrol KC, Pfaller MA *et al.* editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
6. Hobbs MM *et al.* Methods for Detection of *Trichomonas vaginalis* in the Male Partners of Infected Women: Implications for Control of Trichomoniasis. J Clin Microbiol. 2006; 44(11): 3994–3999.
7. Nye MB, Schwebke JR, Body BA. Comparison of APTIMA *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. Am J Obstet Gynecol 2009;200: 181–7.
8. Domeika M, Zhurauskaya L, Savicheva A, Frigo N, Sokolovskiy E, Hallén A, Unemo M, Ballard RC. Guidelines for the laboratory diagnosis of trichomoniasis in East European countries. EE SRH Network Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. First published: 02 September 2010.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Non riutilizzare	Imballaggio riciclabile Lato superiore
Limiti di temperatura		Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Utilizzare entro	Fragile maneggiare con cura	Proteggere dalla luce diretta

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	06/2021

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

