

Einführung

Verwendungszweck

InPouch® TV ist ein verschlossenes Mediensystem für die Rückgewinnung und den Nachweis von *T. vaginalis* aus weiblichen vaginalen oder männlichen urethralen Proben / Urinproben. Das firmeneigene Medium ist selektiv für den Transport und das Wachstum von *T. vaginalis* und hemmt gleichzeitig das Wachstum anderer Mikroorganismen, die eine zuverlässige Diagnose beeinträchtigen können.

Beschreibung und Prinzip

Trichomoniasis ist beim Menschen eine sexuell übertragbare Infektion (sexually-transmitted infection, STI), die durch begeißelte Protozoen der Gattung *Trichomonas vaginalis* hervorgerufen wird. Sie gilt weltweit als eine der häufigsten sexuell übertragenen Infektionen, sowohl bei Männern als auch bei Frauen.^{1, 2} Die US-Gesundheitsbehörde CDC schätzt, dass in den Vereinigten Staaten jährlich fünf Millionen neue Fälle auftreten.

Der Beutel ist für einen benutzerfreundlichen und praktischen frühzeitigen mikroskopischen Nachweis durch Kulturbestätigung von *T. vaginalis* konzipiert.^{3, 4} Der Beutel besteht aus einer sauerstoffbeständigen Hochbarriere-Kunststoffolie mit zwei V-förmigen Kammern, zwischen denen eine dünne Verbindungsleitung verläuft. Das System bietet verschiedene Vorteile. Im Beutel lassen sich Proben auf einfache Weise inokulieren, direkt betrachten (Feuchtpräparat), einlagern und/oder transportieren (optional), bevor sie zur Inkubation und Aufzeichnung ins Labor gebracht werden.

Reagenzien und Aussehen

Das Medium von InPouch enthält folgende Bestandteile: Peptone, Maltose und andere Zucker, Aminosäuren, Salze und antimikrobielle Wirkstoffe in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung. Ein ungeöffneter Beutel enthält eine klare, bernsteinfarbene Flüssigkeit. Der endgültige pH-Wert des Mediums beträgt $6,1 \pm 0,05$.

Vorsichtsmaßnahmen, Sicherheit und Entsorgung

Zur *In-vitro*-Diagnostik

Lesen Sie die Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS), und befolgen Sie die Handhabungshinweise. Tragen Sie eine geeignete Schutzbrille sowie geeignete Schutzkleidung und -handschuhe.

Alle inokulierten Tests müssen gemäß der CDC-NIH-Empfehlung für BSL-2-Organismen gehandhabt werden.

Nachdem der Beutel inokuliert und wieder versiegelt wurde, darf er nur in einem Biosicherheitschrank erneut geöffnet werden. Da infektiöses Material vorhanden sein kann, muss der Beutel durch 20-minütiges Autoklavieren bei 121 °C zerstört werden.

Das Wachstumsmedium von InPouch unterdrückt das Wachstum von Hefen und Bakterien, verhindert es jedoch gegebenenfalls nicht vollständig. Falls sich Gasansammlungen aufgrund von Bakterienwachstum bilden, kann das Gas durch Öffnen des Beutels in einem Biosicherheitschrank der Schutzstufe 2 abgelassen werden.

WARNUNG: Dieses Produkt enthält Chemikalien, die im US-Bundesstaat Kalifornien als Ursache für Krebs, Geburtsschäden oder Einschränkung der Fortpflanzungsfähigkeit eingestuft werden.

Lagerung

Lagern Sie nicht inokulierte Beutel bei 18–25 °C horizontal und vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt. Kühlen Sie das Produkt nicht, und frieren Sie es nicht ein.

Haltbarkeit

Die Haltbarkeit von InPouch beträgt 12 Monate ab Herstellungsdatum.

Verfahren

Wichtige Hinweise zur Probenentnahme:

Vaginal: Entnehmen Sie mit einem sterilen Baumwoll- oder Viskosetupfer eine Probe vom hinteren Scheidengewölbe, und inokulieren Sie den Beutel sofort damit.

Urin und Liquor: Zentrifugieren Sie eine frisch entnommene Probe (weniger als 1 Stunde alt) 5 Minuten lang in einem sterilen Einwegröhrchen bei 500 x g. Dekantieren Sie den Überstand. Inokulieren Sie den Beutel.

Samenflüssigkeit: Die Probe sollte ≤ 60 Minuten alt sein. Nehmen Sie einen Tropfen Samenflüssigkeit mit einer Einwegpipette auf, und inokulieren Sie den Beutel damit.

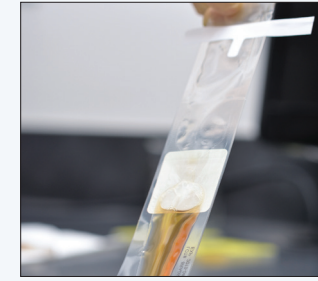
Erforderliche Materialien

- InPouch TV Test(s)

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

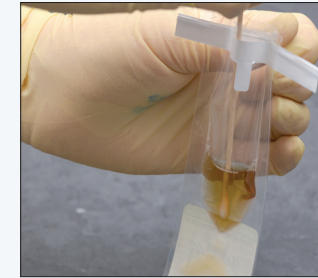
- Einwegpipette (Urinsediment)
- Einwegtupfer aus Baumwolle oder Viskose (Inokulation des Beutels von UTM, Amies oder ESwab® innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme bei 18–25 °C ist akzeptabel.^{10, 11})
- Objektklemme (Katalognummern 10-000-001, 10-000-002)
- Laborinkubator für Inkubation bei 37 °C
- Mikroskop mit Objektiven (10x/20x/40x Okular)

1 – InPouch vorbereiten



Um ein Auslaufen der Flüssigkeit zu verhindern, drücken Sie die Flüssigkeit aus der oberen Beutelkammer hinunter in die untere Kammer. Reißen Sie die Kunststoffolie, die über den weißen Verschluss herausragt, ab.

2 – Probe inokulieren



Um den Tupfer einzuführen, öffnen Sie den Beutel, indem Sie die mittleren Laschen des Verschlussbandes auseinanderziehen. Drücken Sie vorsichtig eine kleine Menge Flüssigkeit zurück in die obere Kammer, und kneten Sie den Tupfer zwischen den Wänden des Beutels durch. Entnehmen Sie den Tupfer, und entsorgen Sie ihn.

3 – Probe integrieren



Rollen Sie vor dem Durchdrücken der Probe in die untere Kammer sowie vor der Inkubation die obere Beutelkante herunter, wobei Sie sie mindestens zwei Mal umschlagen, und sichern Sie die Endlaschen, um den Beutel zu versiegeln. Isolieren Sie die Probe unter der Objektklemme, und betrachten Sie sie in der oberen Kammer unter dem Mikroskop. Wenn lebende motile Trichomonaden erkannt werden, ist dies ein präsumtiv positives Ergebnis. Auch Schlüsselzellen und Hefezellen können nach der Inokulation mehrere Stunden lang mikroskopisch beobachtet werden. Senden Sie die Probe zur Bestätigung an ein Labor.

Inkubation

Drücken Sie die Probe und die Flüssigkeit in die untere Kammer. Rollen Sie das offene Ende der oberen Kammer herunter, indem Sie es 2 bis 3 Mal fest umschlagen. Versiegeln Sie den Beutel, indem Sie die Laschen um die Seiten des Beutels falten.

HINWEIS: Füllen Sie die Patienteninformationen aus, und kleben Sie das Patientenetikett über das blaue Biomed-Etikett, nicht auf das Sichtfenster.

Inkubieren Sie den Beutel bis zu 7 Tage lang vertikal bei 37 °C.⁸ Der Beutel ist für einen sicheren Transport konzipiert.⁹ Inokulierte Tests müssen innerhalb von 48 Stunden nach der Inokulation transportiert und bei 18–37 °C aufbewahrt werden.⁷

Qualitätskontrolle

Dieses Produkt wurde getestet und erfüllt die CLSI-Norm (vormals NCCLS) für kommerziell hergestellte Medien (M22-A3). Bei der Herstellung werden Qualitätskontrollen für jede InPouch TV Charge durchgeführt. Die Fähigkeit des

Mediums, das Wachstum zu unterstützen und das erwartete Wachstum, die erwartete Selektivität und die erwartete Morphologie nachzuweisen, wird chargenweise verifiziert.

InPouch TV wird gemäß den kontrollierten Verfahren von Biomed Diagnostics hergestellt. Jede Charge durchläuft vor der Freigabe an den Kunden einen ersten Leistungstest zur Qualitätskontrolle. Zusätzliche Leistungstests werden während der angegebenen Dauer der Haltbarkeit jeder Charge durchgeführt, um absolute Zuverlässigkeit zu gewährleisten.

Folgendes wird für Kunden empfohlen, die unabhängige Qualitätskontrollen von InPouch TV durchführen möchten:

1. Nehmen Sie eine Probe lebensfähiger *Trichomonas-vaginalis*-Organismen in einem Bereich von $2,0 \times 10^6$ lebender Zellen/ml auf.
2. Inokulieren Sie drei (3) InPouch TV Tests mit 1–12 Tropfen (20–40 µl) der Lebendkultur unter Verwendung einer sterilen Pasteurpipette aus Glas. Gehen Sie dabei wie im Schritt „Probe inokulieren“ in dieser Beilage beschrieben vor.

Für zusätzliche
Produktinformationen
einscannen



- Inkubieren Sie den inokulierten InPouch Test 24 Stunden lang bei 37 °C. Suspendieren Sie die Probe nach der Inkubation erneut, indem Sie den Beutel durchkneten. Untersuchen Sie jeden Beutel mikroskopisch (10x-Okular), und vergewissern Sie sich, dass lebensfähige *Trichomonas-vaginalis*-Organismen in einem Bereich von 2,0 x 10³ bis 2,0 x 10⁶ lebender Zellen/ml vorhanden sind. Inkubieren Sie die Beutel bei Bedarf weitere 24 Stunden lang, um die Verdoppelungszeit zu bestätigen.

Hinweise zur Qualität

- Die Menstruation beeinträchtigt das Testergebnis nicht.
- Bei der Probenentnahme gibt es keine Beschränkungen hinsichtlich des Alters des Patienten.

Trichomonas vaginalis LEBENDKULTUR

Es sind Lebendkulturen von *T. vaginalis* (klinisches Isolat) für Forschungs-, Schulungs- und Qualitätssicherungszwecke verfügbar (nur für Kunden in Nordamerika). Eine solche Lebendkultur (Positivkontrolle) kann bei Biomed Diagnostics (Katalognummern 11-035-001, 11-041-003) erworben werden, um eine aktive Kultur von *T. vaginalis* zu erhalten.

Interpretation der Ergebnisse

Bewertung

Zum Prüfen auf Trichomonaden befestigen Sie eine Objektklemme horizontal über der unteren Kammer des Beutels (die Objektklemme ist optional). Legen Sie den Beutel auf den Mikroskopisch, und überprüfen Sie ihn bei leichter Vergrößerung (100-fach) auf Trichomonaden. Verwenden Sie bei Bedarf eine höhere Vergrößerung (200-fach bis 400-fach), um den Befund zu bestätigen.

Für ein präsumtiv positives Ergebnis ist es ausreichend, wenn mindestens 1 lebende Zelle *T. vaginalis* erkannt wird. Setzen Sie die Inkubation fort, und wiederholen Sie die Prüfung unter dem Mikroskop täglich 5 Arbeitstage lang, bevor Sie ein negatives Ergebnis berichten.⁸

Tipps zur Probenbetrachtung

- Trichomonaden sammeln sich am Boden und an den Rändern der Beutelkammer an.
- Stellen Sie sicher, dass sich Ihr Fokusbereich in der Flüssigkeit und nicht auf der strukturierten Kunststoffolie des Beutels befindet.

Zusätzliche Produkthinweise

- Kühlen Sie den Beutel NICHT, und frieren Sie ihn nicht ein.
- Beschriften Sie jedes Etikett mit den Patienteninformationen.

Beschränkungen

Nur zur Kultivierung von *T. vaginalis*. InPouch TV dient nur zur präsumtiven Identifizierung von *T. vaginalis* beim Menschen.

Leistungseigenschaften

Klinische Spezifität: 100 %; ⁵ Klinische Sensitivität: 81–94 %, ^{5,6}

Technische Hinweise

Beurteilung von *Trichomonas-vaginalis*-Kulturen

Lebensfähigkeit nach 48 Stunden bei Raumtemperatur (18–25 °C)

Trichomonas vaginalis SJCR66 wurde 48 Stunden lang bei 37 °C in einem InPouch TV Testbeutel inkubiert. Zur Bestimmung der endgültigen Kulturverdünnung auf 7,75 x 10⁴ Zellen/ml wurde eine Zählkammer nach Neubauer verwendet.

Mit dieser Trichomonaden-Verdünnung wurden vier Beutel inokuliert. Die Inokulationsmengen betragen 30 µl bei Beutel 1, 60 µl bei Beutel 2, 90 µl bei Beutel 3 und 120 µl bei Beutel 4.

Die Kulturdichten pro Beutel waren:

- Beutel 1 2,3 x 10³ Zellen/ml
- Beutel 2 4,6 x 10³ Zellen/ml
- Beutel 3 6,9 x 10³ Zellen/ml
- Beutel 4 9,2 x 10³ Zellen/ml

Alle vier Beutel durften 48 Stunden lang bei Raumtemperatur aufbewahrt werden, bevor sie 24 Stunden lang in einen Inkubator bei 37 °C gelegt wurden. Jeder Beutel wurde nach 24 Stunden mikroskopisch auf lebensfähige Zellen untersucht. Das Ergebnis war für alle Beutel positiv auf motile Trichomonaden. Die geringste Anzahl an Organismen befand sich in Beutel 1 und die höchste in Beutel 4. Dies zeigt, dass eine Probe, die mit 2,3 x 10³ Zellen/ml lebensfähiger Trichomonaden im Beutel inokuliert wird, bei Raumtemperatur mindestens 48 Stunden lang lebensfähig bleibt.

Kenneth A. Borchardt, Ph.D., Chief Research Scientist Doc. Nr. 100-045B

Literaturnachweise

- Krieger JN, et al., JAMA 1988; 259:1223-1227
- Krieger JN, Trichomoniasis in Men: Old Issues and New Data. Sexually Transmitted Diseases. 1995; 22:83-96.
- Draper D, et al., Detection of *T. vaginalis* in pregnant women with the InPouch TV culture system, J Clinical Microbiology. 1993; 31:1016-1018.
- Borchardt KA, et al., A Clinical Evaluation of Trichomoniasis in San Jose, Costa Rica using the InPouch TV test. Genitourin Med. 1992; 68:328-330.
- Beverly AL, et al., Viability of *T. vaginalis* in transport medium. J Clinical Microbiology. 1999; 37: 37-49
- Ohlemeyer CL, et al., Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* in adolescent females: InPouch TV culture versus wet-mount microscopy. Journal of Adolescent Health, 1998; 22(3): 205-208
- Huppert JS, et al., Rapid antigen testing compares favorably with transcription-mediated amplification assay for the detection of *T. vaginalis* in young women. Clinical Infectious Diseases. 2007; 45(2):194-198.
- Rivers CA, et al., Diagnostic Rates Differ on Basis of the Number of Read Days with the Use of the InPouch Culture System for *Trichomonas vaginalis* Screening. J Clinical Microbiology. 2013; 51(11):3875-3876
- Barenfanger J, et al., Timing and inoculation of the pouch makes no difference in increased detection of *T. vaginalis* by the InPouch Method. J Clinical Microbiology. 2002; 40:1387-1389.
- Rivers CA, et al., Viability of *Trichomonas vaginalis* in Copan Universal Transport Medium and eSwab Transport Medium. J Clinical Microbiology. 2008; 46(9): 3134-3135.11. Beverly AL, et al., Viability of *Trichomonas vaginalis* in Transport Medium. J Clinical Microbiology. 1999; 37(11):3749-3750.

Symbolglossar: biomeddiagnostics.com/1/symbol-glossary

Dokumentversionsverlauf der entsprechenden englischen Version 100-001

Rev. P, September 2019

Neues Format; neue Katalognummern hinzugefügt, Einschränkung bezüglich Kondenswasserbildung, Verweis auf Online-Symbolglossar, Dokumentversionsverlauf; Vorgabe von 18–25 °C statt Raumtemperatur; einige Abschnitte und Überschriften umgeschrieben



Hergestellt von:
Biomed Diagnostics, Inc.
1388 Antelope Road
White City, OR 97503 USA
biomeddiagnostics.com



InPouch® TV

Ein selektives Kultursystem für die Diagnose von
Trichomonas vaginalis beim Menschen

REF

11-031-001



10

REF

11-031-002



100

Nicht in allen Ländern verfügbar; bitte erkundigen Sie sich.
Zur *In-vitro*-Diagnostik



Analysezertifikat



herunterladen