



LBM[®] CAT Broth

Instructions for Use



CAT BROTH

Information Leaflet & User Guide

See the glossary of symbols at the end of the information leaflet.

INTENDED USE

CAT BROTH is a device for preservation and cultivation of *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* and other yeasts present in urogenital samples.

SUMMARY AND PRINCIPLES

Among the pathogens responsible for infectious genital disease, those determining the onset of vaginitis are essentially bacteria, fungi and protozoa. Mycotic vaginitis is one of the most frequent genital infections caused by *Candida albicans* in about 70-80% of cases and by non albicans species for the remaining 20-30%. An increase in the yeast load - normally present in the vagina even if healthy - due to microbiological and/or physiological factors increases the probability of infection symptoms setting in, especially when pseudohyphae, the most virulent form, manifest themselves. *Trichomonas vaginalis*, a sexually transmitted flagellate protozoan, is the cause of infection of the genito-urinary tract, which may be asymptomatic but can also manifest itself with characteristic symptomatology and can extend to the uterus and the tubes, at times causing severe pelvic infection and in pregnant women an increased risk of premature birth. The symptoms are less evident in men but can cause urethritis and prostatitis. In any event, it would appear that it increases susceptibility to HIV. The most common and fastest method used to diagnose trichomoniasis is direct microscopic examination of vaginal secretion, while the most sensitive technique is examination of vaginal and urethral sample cultures. Using a culture medium that allows preserving and growing *Trichomonas* and *Candida* is a useful tool for microbiological diagnostic examination to study urethrovaginal infections in order to ascertain the microbial aetiology of the disease.

The protein base constituting the medium provides the source of carbon and amine nitrogen added to which is horse serum as growth supplement and yeast extract as source of vitamin B complex. The medium contains a wide-spectrum antibiotic supplement (chloramphenicol) as inhibiting agent for concurrent flora with an inhibiting action towards gram-negative and gram-positive bacteria while the presence of reducing agents favours the anaerobic growth conditions.

REAGENTS

CAT BROTH medium composition

Pancreatic Digest of Casein
Yeast extract
Glucose
Sodium chloride
L-Cysteine
Sodium thioglycollate
Horse serum
Chloramphenicol

WARNINGS

1. CAT BROTH is a single-use device intended for in vitro diagnostic use.
2. Observe the approved precautions for potentially hazardous biological materials and aseptic techniques.
3. This device may only be used by adequately trained and qualified personnel. The manufacturer declines all responsibility for use by unqualified or unauthorised persons.
4. The clinical samples may contain pathogenic microorganisms, including hepatitis or human immunodeficiency viruses. Handle all materials and items contaminated with blood and other biological fluids in compliance with the guidelines and "standard precautions" dictated by the institutional bodies.
5. All samples and materials used for product analysis are to be considered potentially infected and must therefore be handled in such a way as to prevent infection of laboratory personnel. After use, sterilize all potentially hazardous waste including samples, containers and transport and culture media.
6. Strictly follow the instructions.
7. The device is not suitable for transport of microorganisms not included in the intended use.
8. Do not ingest the culture medium.
9. Do not use the culture medium to pre-moisten the swab before collecting the sample or rinse or irrigate the sampling sites.
10. The product is not reusable; reuse may result in incorrect diagnosis.
11. Do not use the device if there are evident signs of damage.
12. Avoid skin contact with the culture medium.
13. If the sample was taken and transported using common sampling and transport systems and is to be processed with automatic plating systems, remove the swab from the test tube containing the enrichment medium before processing.
14. Consult the operating instructions supplied with the device or available in electronic format, and which can be identified by the e-IFU indicator on the packaging label.

STORAGE

CAT BROTH is ready to use and does not require additional preparation. It must be stored in its original package at 5-25°C until the time of use. Do not overheat. Do not incubate or freeze prior to use; inappropriate storage determines a loss of effectiveness. Do not use after the expiry date printed on the external package and on the label of the culture medium test tube.

PRODUCT DETERIORATION

Do not use CAT BROTH if it shows visible signs of damage or contamination, leakage or other signs of deterioration.

MATERIAL INCLUDED

Code	Description	Availability	Use in automation
094CE.A	12x80mm tapered-bottom test tube with screw cap containing 2 ml of CAT BROTH medium	1 box of 300 pcs (6x50 units)	Yes
094CE	12x80mm tapered-bottom test tube with screw cap containing 2 ml of CAT BROTH medium	1 box of 300 pcs (6x50 units)	No
092CN	16x100mm tapered-bottom test tube with screw cap containing 4 ml of CAT BROTH medium and fiber swab with breakpoint in a pouch.	1 box of 300 pcs (6x50 units)	Yes

REQUIRED MATERIAL BUT NOT INCLUDED

Ancillary culture plates, reagents, organisms for quality control, various laboratory instruments, Regular Flocked Swab with pre-moulded breakpoint at 80 mm (502CS01), Minitip Flocked Swab with pre-moulded breakpoint at 80 mm (501CS01).

NB: If the swab is processed with automatic plating systems for culture samples, the Regular Flocked Swab with pre-moulded breakpoint at 80 mm (502CS01) is validated for use. Any other type of swab – including the Minitip Flocked Swab (code 501CS01) – must be removed from the tube before loading the sample on the automatic system.

INSTRUCTIONS FOR USE

Sample collection

The samples to be analysed to search for *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* and other yeasts may be in various forms: vaginal exudate, prostatic secretion, urethral secretion.

- Loosen the cap of the test tube containing the culture medium.
- Collect the sample.
- Open the test tube and immediately insert the swab.
- Break the swab shaft inside the test tube at the breakpoint indicated.
- Securely screw the cap back on.
- Identify the test tube with the patient's data and send the sample to the laboratory for analysis.

Use in the laboratory

Culture examination for *T. vaginalis*: incubate the test tube at 35±2°C for 2-7 days and starting from the second day, observe the typical morphology under the microscope.

Culture examination for yeasts: the sample can directly be seeded and/or after test tube incubation at 35±2°C for 24 hours on a suitable culture medium plate (i.e. SDA plate) by means of:

- Automatic plating
- Direct seeding with swab

QUALITY CONTROL AND PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The quality control procedures include checking system performance using pure microbial suspensions of ATCC® strains of the two target microbiological agents, *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans*, and checking the inhibiting capacity using *Escherichia coli*.

Procedures applied:

Growth test with *C. albicans*

1. From a pure culture of an ATCC® strain, prepare a 0.5 McF suspension corresponding to 1.5x10⁸ CFU/ml.
2. Prepare a dilution from the 0.5 McF bacterial suspension able to give a plate count of 30-300 CFU in 100 µl.
3. Retrieve 200 µl of medium from the thus prepared dilution and inoculate the CAT BROTH medium.
4. Close the system and vortex for 10 seconds at 2000/2500 RPM.
5. Plate 100 µl at time zero (immediately) on an appropriate culture medium plate (i.e. SDA plates).
6. Incubate the zero-time test tube and plates at 35 ±2°C for 24 hours.
7. After 24 hours incubation, retrieve the CAT BROTH device from the incubator.
8. Seed the plate (i.e. SDA plate) with 100 µl using a micropipette and a spreader.
9. Incubate the plates for a further 24 hours at 35 ±2°C.

Inhibition test with *E. coli*

1. From a pure culture of an ATCC® strain, prepare a 0.5 McF suspension corresponding to 1.5x10⁸ CFU/ml.
2. Prepare a dilution from the 0.5 McF bacterial suspension able to give a semiconfluent growth after seeding the plate with 100 µl (0.5 suspension diluted 1:100).
3. Retrieve 200 µl of medium from the thus prepared dilution and inoculate the CAT BROTH medium.
4. Close the system and vortex for 10 seconds at 2000/2500 RPM.
5. Plate 100 µl at time zero (immediately) on an appropriate culture medium plate (i.e. SDA plates).
6. Incubate the zero-time test tube and plates at 35 ±2°C for 24 hours.
7. After 24 hours incubation, retrieve the CAT BROTH device from the incubator.
8. Seed the plate (i.e. SDA plate) with 100 µl using a micropipette and a spreader.
9. Incubate the plates for a further 24 hours at 35 ±2°C.

Growth test with *T. vaginalis*

1. Immerse the bulb until the frozen material is completely covered in a bain-marie at 35±2°C for 2-3 minutes until it has fully thawed.
2. Immediately after thawing, aseptically transfer the strain to a test tube containing 13ml of reconstituted broth 2154 brought up to pH 6.0 by adding 150 µl of 1N HCl. Incubate the test tube at 35±2°C in a 15° slanted position.
3. Empirically determine the culture density peak by microscopic inspection evaluating the number of vital organisms (normally 3-4 days).
4. When the density peak has been reached, place the test tube in ice for 10 minutes. Gently turn the test tube upside down 10 times and aseptically transfer 200 µl of the suspension to a CAT BROTH test tube and immediately do a zero-time count by fresh microscopic examination.
5. Incubate the test tube at 35°C for 72 hours.
6. After 72 hours, retrieve 100 µl and check for the presence/number of protozoa by fresh microscopic examination.

RESULTS

ATCC® strain	Average of CFUs recovered at time 0 hr	Average of CFUs recovered at time 24 hrs
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Confluent growth
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Semiconfluent growth	Inhibition (from partial to total)

ATCC® strain	Average count at 0 hr in 100 µl	Average count at 72 hrs in 100µl
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	> 155

The results of the tests were obtained with ATCC® strains in the laboratory. The results are expressed as the means obtained from three test-tubes at 24 hours for *C. albicans* and *E. coli*, and at 72 hours for *T. vaginalis*.

The results obtained largely depend on appropriate and adequate collection of the sample, as well as on prompt transport and laboratory analysis.

Italiano

CAT BROTH

Foglietto Illustrativo & Guida all'Uso

Vedi glossario dei simboli alla fine del foglietto illustrativo

USO PREVISTO

CAT BROTH è un dispositivo per il mantenimento e la coltura di *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* e altri lieviti presenti in campioni urogenitali.

SOMMARIO E PRINCIPI

Tra i patogeni responsabili di patologia infettiva genitale, quelli determinanti l'insorgenza di vaginiti sono essenzialmente batteri, miceti o protozoi. La vaginite micotica è una delle infezioni genitali più frequenti, di cui è responsabile per circa il 70-80% dei casi la *Candida albicans* e nel restante 20-30% altre specie non albicans. L'aumento della carica del lievito, abitualmente presente a livello vaginale anche in condizioni di benessere, dovuta a fattori microbiologici e/o fisiologici, aumenta la probabilità che si instaurino i sintomi dell'infezione specie quando si manifestano le pseudoife che ne rappresentano la forma virulenta. Il *Trichomonas vaginalis*, un protozoo flagellato sessualmente trasmesso, è la causa di un'infezione del tratto genito-urinario che può essere anche asintomatica ma che può anche manifestarsi con sintomatologia caratteristica e che può estendersi all'utero e alle tube causando un'infezione pelvica talora grave ed in gravidanza sottopone ad aumentato rischio di parto pre-terminale. Negli uomini i sintomi sono meno evidenti ma può causare uretriti e prostatiti. In ogni caso sembra aumenti la suscettibilità all'HIV. Il metodo più comune e rapido usato per diagnosticare la tricomoniassi è l'esame microscopico diretto della secrezione vaginale mentre le culture di campioni vaginali ed uretrali rappresentano la tecnica più sensibile. L'utilizzo di un terreno che permetta il mantenimento e la crescita di *Trichomonas* e di *Candida* rappresenta un utile strumento per l'indagine diagnostica microbiologica per lo studio delle infezioni uretro-vaginali atte ad accertare l'eziologia microbica della patologia.

La base proteica costituente il terreno fornisce la fonte di carbonio ed azoto amminico e viene addizionata con siero di cavallo che rappresenta un supplemento di crescita ed estratto di lievito come fonte di vitamine del complesso B. Il terreno contiene come agente inibente per la flora concomitante un supplemento di antibiotico a largo spettro, il cloramfenicolo, con azione inibente verso i batteri gram negativi e positivi mentre la presenza dei riducenti favorisce le condizioni di crescita dell'anaerobico.

REAGENTI

Composizione terreno CAT BROTH

Pancreatic digest of Casein
Yeast Extract
Glucose
Sodium Chloride
L-Cysteine
Sodium Thioglycollate
Horse Serum
Chloramphenicol

AVVERTENZE

1. CAT BROTH è un dispositivo monouso destinato all'uso diagnostico in vitro.
2. Osservare le precauzioni approvate relative a materiali biologici potenzialmente pericolosi nonché alle tecniche in asepsi.
3. L'uso deve essere limitato al personale adeguatamente addestrato e qualificato. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'utilizzo di persone non qualificate o non autorizzate.
4. I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi virus dell'Epatite o dell'immunodeficienza umano. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle linee guida e alla "precauzioni standard" dettate dagli organi istituzionali.
5. Tutti i campioni ed i materiali impiegati per l'analisi del prodotto sono da considerarsi potenzialmente infetti e devono essere quindi gestiti in modo tale da evitare il rischio di infezione del personale di laboratorio. Dopo l'uso sterilizzare tutti i rifiuti potenzialmente pericolosi compresi campioni, contenitori e terreni di trasporto e coltura.
6. Attenersi rigorosamente alle istruzioni.
7. Non adatto al trasporto di microrganismi non compresi nella destinazione d'uso.
8. Non ingerire il terreno.
9. Non utilizzare il terreno per preinumidire il tampone prima della raccolta del campione o risciacquare od irrigare i siti di campionamento.
10. Il prodotto non è riutilizzabile, il riutilizzo potrebbe causare diagnosi non corretta.
11. Non utilizzare in caso di evidenti segni di danneggiamento.
12. Evitare il contatto della pelle con il terreno.
13. Qualora il prelievo ed il trasporto del campione fosse stato eseguito utilizzando i comuni sistemi di prelievo e trasporto e il campione volesse essere processato con i sistemi automatici di piastratura è necessario, prima di processare il campione con l'automazione, rimuovere il tampone dalla provetta contenente il terreno di arricchimento.
14. Verificare la versione delle istruzioni per l'uso. La versione corretta è quella fornita con il dispositivo oppure disponibile in formato elettronico ed identificata dall'e-IFU indicator sull'etichetta imballo.

CONSERVAZIONE

CAT BROTH è pronto all'uso e non necessita di ulteriori preparazioni. Deve essere conservato nell'imballo originale a 5-25°C fino al momento dell'utilizzo. Non surriscaldare. Non incubare o congelare prima dell'uso, una conservazione inappropriata determina una perdita di efficacia. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sulla confezione esterna e sull'etichetta della provetta del terreno.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Non utilizzare CAT BROTH se il prodotto presenta segni visibili di danneggiamento o contaminazione, di perdite od in presenza di altri segni di deterioramento.

MATERIALE INCLUSO

Codice	Descrizione	Disponibilità	Utilizzo in automazione
094CE.A	Provetta fondo conico 12x80mm con tappo a vite, contenente 2 ml di terreno CAT Broth	1 box da 300 pcs (6X50 unità)	Si
094CE	Provetta fondo conico 12x80mm con tappo a vite, contenente 2 ml di terreno CAT Broth	1 box da 300 pcs (6X50 unità)	No
092CN	Provetta fondo conico 16x100 mm con tappo a vite, contenente 4 ml di terreno CAT broth e tampone in fibra avvolta con punto di frattura in busta.	1 box da 300 pcs (6X50 unità)	Si

MATERIALI NECESSARI MA NON INCLUSI

Piastrare di coltura ancillari, reagenti, organismi per il controllo qualità, strumentazione varia di laboratorio e Tampone Floccato Regular con punto di frattura stampato a 80 mm (502CS01), Tampone Floccato Minutip con punto di frattura stampato a 80 mm (501CS01)

NB Qualora il tampone venga processato con automazioni per piastratura dei campioni per coltura, l'asta validata all'uso è il Tampone Floccato Regular con punto di frattura stampato a 80 mm (502CS01). Qualsiasi altro tipo di asta – compresa la Floccata Minutip codice 501CS01 – andrà rimossa dal tubo prima del caricamento del campione sull'automazione.

ISTRUZIONI PER L'USO

Raccolta dei campioni

I campioni da analizzare per la ricerca di *Thricomonas vaginalis*, *Candida albicans* e di lieviti, si possono presentare sotto diversi formati: essudato vaginale, secrezione prostatica, secreto uretrale.

- Allentare il tappo della provetta contenente il terreno colturale.
- Procedere con il prelievo del campione.
- Aprire la provetta ed inserire immediatamente l'asta.
- Rompere l'asta all'interno della provetta al punto di frattura indicato.

- Avvitare saldamente il tappo.
- Identificare la provetta con i dati riferiti al paziente e mandare il campione al laboratorio per le analisi.

Utilizzo in laboratorio

Esame culturale per *T. vaginalis*: Effettuare l'incubazione della provetta a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ per 2-7 giorni ed eseguire, a partire dal secondo giorno, l'osservazione microscopica della morfologia tipica.

Esame culturale per lieviti: è possibile procedere alla semina diretta del campione e/o dopo incubazione della provetta a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ per 24h su terreno culturale idoneo in piastra (i.e. SDA plate) che può essere eseguita mediante:

- Piastratura automatica;
- Semina diretta con tampone.

CONTROLLO QUALITÀ E CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

Le procedure per il controllo qualità comprendono la verifica della performance del sistema, utilizzando sospensioni microbiche pure di ceppi ATCC® dei due agenti microbiologici target *Trichomonas vaginalis* e *Candida albicans* e la verifica della capacità inibente utilizzando *Escherichia coli*.

Procedure applicate:

Verifica crescita con *C. albicans*

1. Da coltura pura di un ceppo ATCC® preparare uno 0.5 McF corrispondente a $1,5 \times 10^8$ ufc/ml
2. Preparare una diluzione dalla sospensione batterica 0.5McF, che possa dare una conta in piastra pari a 30-300 UFC in 100 μl
3. Recuperare dalla diluzione così preparata 200 μl di terreno e inoculare il terreno CAT broth
4. Chiudere il sistema e vortexare il tubo per 10 secondi a 2000/2500 RPM
5. Piastrare 100 μl a tempo zero (immediatamente) su terreno di coltura in piastra appropriato (i.e.SDA plates).
6. Incubare il tubo e le piastre del tempo zero, per 24 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
7. Dopo 24 h di incubazione recuperare il dispositivo CAT broth dall'incubatore
8. Utilizzando una micropipetta e una spreader procedere alla semina in piastra (i. e. SDA) di 100 μl
9. Incubare le piastre per ulteriori 24 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

Controllo di inibizione con *E. coli*

1. Da coltura pura di un ceppo ATCC® preparare uno 0.5 McF corrispondente a $1,5 \times 10^8$ ufc/ml.
2. Preparare una diluzione dalla sospensione batterica 0.5McF, che possa dare una crescita semiconfluente dopo semina di 100 μl in piastra (0.5 diluito 1:100)
3. Recuperare dalla diluzione così preparata 200 μl di terreno e inoculare il terreno CAT broth
4. Chiudere il sistema e vortexare il tubo per 10 secondi a 2000/2500 RPM
5. Piastrare 100 μl a tempo zero (immediatamente) su terreno di coltura in piastra appropriato (i.e.SDA plates).
6. Incubare il tubo e le piastre del tempo zero, per 24 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
7. Dopo 24 h di incubazione recuperare il dispositivo CAT broth dall'incubatore
8. Utilizzando una micropipetta e una spreader procedere alla semina in piastra (i. e. SDA) di 100 μl
9. Incubare le piastre per ulteriori 24 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

Verifica crescita con *T. vaginalis*

1. Immergere l'ampolla fino a completa copertura del materiale congelato in un bagnomaria a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ per 2-3 minuti fino al completo scongelamento
2. Immediatamente dopo lo scongelamento, trasferire asetticamente il ceppo in una provetta contenente 13mL di Brodo 2154 ricostituito e portato a pH 6.0 per aggiunta di 150 μL di 1N HCl. Incubare la provetta a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ in posizione inclinata di 15° .
3. Determinare empiricamente il picco di densità della coltura per ispezione microscopica valutando il numero di organismi vitali (normalmente 3-4 giorni);
4. Al raggiungimento del picco di densità, porre la provetta in ghiaccio per 10 minuti. Invertire gentilmente la provetta 10 volte e trasferire asetticamente 200 μL della sospensione in una provetta di CAT broth verificare subito con un esame microscopico a fresco eseguendo un conteggio a tempo zero
5. Incubare la provetta a 35°C per 72h.
6. Dopo 72h recuperare 100 μl e verificare con un esame microscopico a fresco la presenza/numerosità del protozoo.

RISULTATI

Ceppo ATCC®	UFC medie recuperate a 0 ore	UFC medie recuperate a 24 ore
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Crescita confluyente
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Crescita semiconfluente	Inibizione (da parziale a totale)

Ceppo ATCC®	Conteggio medio a 0 ore in 100 μl	Conteggio medio a 72 ore in 100 μl
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	> 155

I risultati dei test sono stati ottenuti con ceppi ATCC® in laboratorio. I risultati vengono espressi nella tabella come le medie ottenute dalle tre provette testate a 24 ore per *C. albicans* e *E. coli*, e a 72 ore per la *T. vaginalis*.

I risultati ottenuti dipendono ampiamente dall'appropriata e adeguata raccolta del campione, così come da un trasporto e analisi tempestiva in laboratorio.

CAT BROTH

Folleto ilustrativo y guía de uso

Véase el glosario de los símbolos al final del folleto ilustrativo.

USO PREVISTO

CAT BROTH es un producto para el mantenimiento y el cultivo de *Thrichomonas vaginalis*, *Candida albicans* y otras levaduras presentes en las muestras urogenitales.

INTRODUCCIÓN Y PRINCIPIOS

Entre los patógenos responsables de las enfermedades infecciosas genitales, los organismos que determinan la aparición de la vaginitis son esencialmente las bacterias, los hongos o los protozoos. La vaginitis micótica es una de las infecciones genitales más frecuentes. Está causada por *Candida albicans* en prácticamente el 70 u 80% de los casos y por otras especies no albicans en los demás casos (20-30%). El aumento de la concentración vaginal de levadura que se considera normal en mujeres sanas a causa de factores microbiológicos y/o fisiológicos incrementa la probabilidad de desarrollar los síntomas de la infección, especialmente en su forma más virulenta que son las pseudohifas. *Trichomonas vaginalis* es un protozoo flagelado de transmisión sexual causante de infecciones de las vías urinarias que pueden ser asintomática, pero que también pueden manifestar síntomas característicos y extenderse al útero y las trompas. Esto puede provocar una infección pélvica grave que aumenta el riesgo de parto prematuro en mujeres embarazadas. Aunque los síntomas son menos evidentes en hombres, puede causar uretritis y prostatitis. En ambos casos parece aumentar la susceptibilidad al VIH. El método más común y rápido para diagnosticar la tricomoniasis es el análisis microscópico directo de las secreciones vaginales, mientras que el cultivo de muestras vaginales y uretrales es la técnica que ofrece más sensibilidad. El empleo de un medio que garantice el mantenimiento y la proliferación de los tricomonas y las candidas será de utilidad en pruebas de laboratorio microbiológico durante análisis de infecciones uretrovaginales destinados a determinar la etiología microbiana de la enfermedad.

La base proteica del medio constituye la fuente de carbono y nitrógeno amínico, a la que se añade suero de caballo, que actúa como suplemento de crecimiento, y extracto de levadura, que es fuente de vitamina B. Como inhibidor de la flora intestinal, el medio contiene un suplemento de antibióticos de gran espectro denominado cloranfenicol, que inhibe las bacterias gramnegativas y positivas, mientras que la presencia de las sustancias reductoras favorece las condiciones de crecimiento de las bacterias anaeróbicas.

REACTIVOS

Composición del caldo CAT BROTH

Digerido pancreático de caseína
Extracto de levadura
Glucosa
Cloruro sódico
L-cisteína
Tioglicolato de sodio
Suero de caballo
Cloranfenicol

ADVERTENCIAS

1. CAT BROTH es un producto de usar y tirar que se utiliza en diagnósticos in vitro.
2. Respetar las medidas de precaución aprobadas en relación con los materiales biológicos potencialmente peligrosos y emplear técnicas asépticas.
3. El producto debe ser utilizado exclusivamente por personal debidamente adiestrado y cualificado. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que personas no cualificadas o autorizadas utilicen el producto.
4. Las muestras clínicas pueden contener microorganismos patógenos, incluidos los virus de la hepatitis y de la inmunodeficiencia humana. Manipular todo el material y los elementos contaminados con sangre y demás fluidos biológicos con arreglo a las directrices y las "medidas de precaución convencionales" de los organismos institucionales.
5. Todas las muestras y los materiales utilizados en el análisis del producto deben considerarse potencialmente infectados y, por lo tanto, deben manipularse de manera que se evite el riesgo de infección del personal de laboratorio. Después del uso, esterilizar todos los residuos potencialmente peligrosos, incluidas las muestras, los contenedores y los medios de cultivo y transporte.
6. Respetar estrictamente las instrucciones.
7. No es apto para transportar microorganismos que no forman parte del uso previsto.
8. No ingerir el medio.
9. No utilizar el medio para humedecer previamente el tampón antes de obtener la muestra, ni para enjuagar o irrigar las zonas donde se obtienen las muestras.
10. El producto no puede reutilizarse; el uso repetido podría dar lugar a un diagnóstico incorrecto.
11. No utilizar si presenta daños evidentes.
12. Evitar el contacto del medio con la piel.
13. Cuando se utilicen los sistemas habituales de obtención y transporte de muestras para extraer y transportar las muestras, y se quiera procesar la muestra con sistemas automáticos de extensión en placa, primero será necesario procesar la muestra con el sistema automático y luego se tendrá que quitar el tampón del tubo de ensayo que contiene el medio de enriquecimiento.
14. Comprobar la versión de las instrucciones de uso. La versión correcta es la que se suministra con el dispositivo o la que está disponible en formato electrónico e identificada por el indicador e-IFU de la etiqueta del embalaje.

CONSERVACIÓN

CAT BROTH es un producto listo para el uso y no requiere ninguna otra preparación. Debe conservarse en el embalaje original a una temperatura de 5-25°C hasta el momento de su utilización. No calentar demasiado. No incubar ni congelar antes de usar; si se conserva de manera inadecuada podría perder su eficacia. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en el envase exterior y en la etiqueta del tubo de ensayo del medio.

DETERIORO DEL PRODUCTO

No utilizar CAT BROTH si el producto presenta signos visibles de daño o contaminación, pérdidas u otros signos de deterioro.

MATERIAL INCLUIDO

Código	Descripción	Disponibilidad	Uso en sistemas automáticos
094CE.A	Tubo de ensayo de fondo cónico de 12x80 mm con tapón de rosca que contiene 2 ml de medio CAT Broth	1 caja de 300 unidades (6X50 unidades)	Sí
094CE	Tubo de ensayo de fondo cónico de 12x80 mm con tapón de rosca que contiene 2 ml de medio CAT Broth	1 caja de 300 unidades (6X50 unidades)	No
092CN	Tubo de ensayo de fondo cónico de 16x100 mm con tapón de rosca que contiene 4 ml de medio CAT Broth y tampón de fibra envuelta con marca de rotura, en bolsa	1 caja de 300 unidades (6X50 unidades)	Sí

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

Placas de cultivo auxiliares, reactivos, organismos de control de calidad, varios instrumentos de laboratorio y tampón flocado normal con marca de rotura impresa a 80 mm (502CS01), tampón flocado Minitip con marca de rotura impresa 80 mm (501CS01)

Nota: cuando el tampón se procese con sistemas automáticos de extensión de muestras de cultivo en placa, habrá que utilizar el tampón flocado normal con marca de rotura a 80 mm (502CS01). Cualquier otro instrumento, incluido el tampón flocado Minitip con código 501CS01, tendrá que extraerse del tubo antes de colocar la muestra en el sistema automático.

INSTRUCCIONES DE USO

Recogida de muestras

Las muestras que se van a analizar para detectar *Thrichomonas vaginalis*, *Candida albicans* y levaduras pueden tener distintos formatos: exudado vaginal, secreción prostática o secreción de la uretra.

- Abrir el tapón del tubo de ensayo que contiene el medio de cultivo.
- Tomar la muestra.
- Abrir el tubo de ensayo e introducir la varilla de inmediato.
- Romper la varilla en el interior del tubo de ensayo por la marca.
- Cerrar bien el tapón.
- Identificar el tubo de ensayo con los datos del paciente y enviar la muestra al laboratorio para el análisis.

Uso en el laboratorio

Cultivo para la detección de *T. vaginalis*: Incubar el tubo de ensayo a una temperatura de 35±2°C durante un plazo de 2 a 7 días; la morfología típica podrá verse con el microscopio a partir del segundo día.

Cultivo para la detección de levaduras: la muestra se puede sembrar de forma inmediata y/o después de incubar el tubo de ensayo a 35±2°C durante un plazo de 24 horas en un medio de cultivo en placa que sea idóneo (como SDA). La siembra puede realizarse mediante lo siguiente:

- Extensión en placa automática
- Siembra directa con tampón

CONTROL DE CALIDAD Y CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Los procedimientos de control de calidad incluyen la comprobación del rendimiento del sistema mediante suspensiones bacterianas de cepas puras ATCC® de los dos agentes microbiológicos diana (*Trichomonas vaginalis* y *Candida albicans*) y la verificación de la capacidad de inhibición mediante el uso de *Escherichia coli*.

Procedimientos aplicados:

Verificación de proliferación con *C. albicans*

1. Con un cultivo puro de una cepa ATCC®, preparar una suspensión con densidad 0,5 en la escala McFarland correspondiente a 1,5x10⁸ UFC/ml.
2. Preparar una dilución de la suspensión bacteriana con densidad 0,5 en la escala McFarland que ofrezca un recuento de colonias equivalente a 30-300 UFC en 100 µl.
3. Recuperar 200 µl de medio de la dilución preparada e inocular el medio CAT broth.
4. Cerrar el sistema y agitar el tubo en vórtex a 2000/2500 rpm durante 10 segundos.
5. Extender 100 µl de forma inmediata sobre un medio de cultivo en placa adecuado (como placas SDA).
6. Incubar el tubo y las placas desde el punto de inicio a temperatura de 35±2°C durante un plazo de 24 horas.
7. Tras 24 horas de incubación, recuperar el CAT broth de la incubadora.
8. Proceder a la siembra en placa (como SDA) de 100 µl mediante el uso de una micropipeta y una espátula.
9. Incubar las placas durante 24 horas más a 35±2°C.

Control de inhibición con *E. coli*

- 1. Con un cultivo puro de una cepa ATCC®, preparar una suspensión con densidad 0,5 en la escala McFarland correspondiente a 1,5x10⁸ UFC/ml.
- 2. Preparar una dilución de la suspensión bacteriana con densidad 0,5 en la escala McFarland que pueda garantizar un crecimiento semiconfluyente tras la siembra de 100 µl en la placa (0,5 diluido en una proporción de 1:100).
- 3. Recuperar 200 µl de medio de la dilución preparada e inocular el medio CAT broth.
- 4. Cerrar el sistema y agitar el tubo en vórtex a 2000/2500 rpm durante 10 segundos.
- 5. Extender 100 µl de forma inmediata sobre un medio de cultivo en placa adecuado (como placas SDA).
- 6. Incubar el tubo y las placas desde el punto de inicio a temperatura de 35±2°C durante un plazo de 24 horas.
- 7. Tras 24 horas de incubación, recuperar el CAT broth de la incubadora.
- 8. Proceder a la siembra en placa (como SDA) de 100 µl mediante el uso de una micropipeta y una espátula.
- 9. Incubar las placas durante 24 horas más a 35±2°C.

Verificación de proliferación con *T. vaginalis*

- 1. Introducir la ampolla en un baño maría a 35±2°C hasta que el material congelado quede completamente cubierto; dejar durante un intervalo de 2 a 3 minutos hasta que el material se descongele por completo.
- 2. Inmediatamente después de la descongelación, emplear una técnica aséptica para transferir la cepa a un tubo de ensayo con 13 ml de caldo 2154 reconstituido, al que se ha añadido 150 µL de 1N HCl para que tenga un pH 6.0. Incubar el tubo de ensayo a 35±2°C en una posición con una inclinación de 15°.
- 3. Determinar empíricamente el pico de concentración del cultivo mediante el uso del microscopio y el recuento del número de organismos viables (normalmente 3 o 4 días).
- 4. Cuando se alcance el valor máximo, colocar el tubo de ensayo en hielo durante 10 minutos. Invertir con suavidad el tubo de ensayo 10 veces, transferir 200 µl de la suspensión de manera aséptica en el tubo de CAT broth y efectuar un recuento en el punto de inicio mediante el análisis microscópico en fresco.
- 5. Incubar el tubo de ensayo a 35°C durante 72 horas.
- 6. Después de 72 horas, recuperar 100 µl y comprobar la existencia y la cantidad de protozoos mediante un análisis microscópico en fresco.

RESULTADOS

Cepa ATCC®	Promedio de UFC recuperadas a las 0 horas	Promedio de UFC recuperadas a las 24 horas
C. albicans ATCC® 10231	186	Crecimiento confluyente
E. coli ATCC® 25922	Crecimiento semiconfluyente	Inhibición (de parcial a total)

Cepa ATCC®	Recuento promedio a las 0 horas en 100 µl	Recuento promedio a las 72 horas en 100 µl
T. vaginalis ATCC® 30001	155	>155

Los resultados de las pruebas se obtuvieron con cepas ATCC® en el laboratorio. Los resultados se expresan en la tabla como los promédios obtenidos a partir de las tres probetas ensayadas a las 24 horas para C. albicans y E. coli, y a las 72 horas para T. vaginalis

Los resultados dependen en gran medida de que la muestra se recoja de manera correcta y apropiada, así como de que se transporte y analice en el laboratorio con prontitud.

Deutsch

CAT-BROTH
Packungsbeilage & Gebrauchsinformation

Siehe Glossar der Symbole am Ende der Packungsbeilage

ANWENDUNGSGEBIETE

CAT-BROTH ist ein Medizinprodukt für die Aufbewahrung und Kultivierung von *Thricomonas vaginalis*, *Candida albicans* und anderen in Urogenitalproben enthaltenen Hefen.

ZUSAMMENFASSUNG UND PRINZIPIEN

Zu den Krankheitserregern, die für genitale Infektionen mit verbundener Vaginitis verantwortlich sind, gehören grundsätzlich Bakterien, Myzeten und Protozoen. Die mykotisch bedingte Vaginitis ist eine der häufigsten Genitalinfektionen, und in ca. 70-80% der Fälle ist der Pilz *Candida albicans* dafür verantwortlich; in den restlichen 20-30% andere Nicht-Albicans-Arten. Ein Anstieg der Konzentration der gewöhnlich in der Vaginalflora vorhandenen Hefe, zu dem es auch bei allgemeinem Wohlbefinden aufgrund mikrobiologischer und/oder physiologischer Faktoren kommen kann, erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass Infektionssymptome auftreten, insbesondere wenn sich Pseudohyphen bilden, welche die virulente Form darstellen.

Trichomonas vaginalis, ein durch Geschlechtsverkehr übertragenes, begeißeltes Protozoon, ist die Ursache für Infektionen des Urogenitalbereichs, die asymptomatisch verlaufen können, oft jedoch von charakteristischen Symptomen begleitet werden und sich auf Gebärmutter und Eileiter ausdehnen können, wo die zuweilen schwere Entzündliche Beckenerkrankung verursacht wird, die in der Schwangerschaft zu erhöhtem Risiko für eine Frühgeburt führt. Beim Mann sind die Symptome weniger deutlich, es kann jedoch ebenfalls zu Entzündungen von Harnröhre und Prostata kommen. Auf jeden Fall scheint die Anfälligkeit für HIV gesteigert zu sein. Die verbreitetste und rascheste Methode zur Diagnose der Trichomoniasis ist eine direkte mikroskopische Untersuchung des Vaginalsekrets, während die Kultivierung von Vaginal- und Urethralabstrichen die empfindlichere Technik darstellt. Die Verwendung eines Nährmediums, das Erhaltung und Wachstum von *Trichomonas* und *Candida* ermöglicht, stellt ein nützliches Instrument für die mikrobiologische Diagnostik bei der Untersuchung von Infektionen des Urogenitalbereichs dar, mit deren Hilfe die mikrobielle Ätiologie der Erkrankung festgestellt werden kann.

Die Proteinbasis des Nährmediums liefert Kohlenstoff und aminischen Stickstoff und wird mit Pferdeserum, das ein Wachstumssupplement darstellt, und Hefeextrakt als Quelle für B-Komplex-Vitamine ergänzt. Das Nährmedium enthält zusätzlich als Hemmstoff für die Begleitflora das Breitbandantibiotikum Chloramphenicol, das inhibierend auf gramnegative und grampositive Bakterien wirkt, während die Präsenz der Reduktionsmittel für günstige Wachstumsbedingungen für die Anaerobier sorgt.

REAGENZIEN

Zusammensetzung des Nährmediums CAT-BROTH

Pankreatischer Verdau von Casein
Hefeextrakt
Glucose
Natriumchlorid
L-Cystein
Natriumthioglykolat
Pferdeserum
Chloramphenicol

WARNHINWEISE

1. CAT-BROTH ist ein Medizinprodukt für den einmaligen Gebrauch, das für die Verwendung bei der In-vitro-Diagnostik bestimmt ist.
2. Die genehmigten Vorsichtsmaßnahmen für den Umgang mit potentiell gefährlichem biologischem Material sowie aseptische Technik anwenden.
3. Der Einsatz ist auf angemessen geschultes und qualifiziertes Personal zu beschränken. Der Hersteller verweigert jegliche Haftung im Falle der Verwendung durch nicht qualifizierte oder unbefugte Personen.
4. Klinische Proben können krankheitserregende Mikroorganismen, einschließlich Hepatitisviren und HIV enthalten. Alle Materialien und Artikel, die mit Blut und anderen biologischen Fluiden verunreinigt sind, sind entsprechend den von den zuständigen Behörden erlassenen Leitlinien und „Standardvorkehrungen“ zu handhaben.
5. Alle Proben und die zur Analyse des Produkts verwendeten Materialien haben als potentiell infiziert zu gelten und sind daher mit Methoden zu handhaben, welche die Infektionsgefahr für das Laborpersonal ausschließen. Nach Gebrauch alle potentiell gefährlichen Abfälle einschließlich, Proben, Behälter sowie Transport- und Kulturnährböden sterilisieren.
6. Die Anweisungen sind streng einzuhalten.
7. Nicht für den Transport von Mikroorganismen geeignet, die nicht zum Anwendungsgebiet gehören.
8. Das Nährmedium nicht verschlucken.
9. Das Nährmedium nicht verwenden, um den Tupfer vor der Gewinnung der Probe anzufeuchten oder um die Probenahmestelle zu spülen oder zu befeuchten.
10. Das Produkt darf nicht wiederverwendet werden, denn die Wiederverwendung könnte zu Diagnosefehlern führen.
11. Bei offensichtlichen Anzeichen für Beschädigungen nicht verwenden.
12. Den Kontakt der Haut mit dem Nährmedium vermeiden.
13. Falls Gewinnung und Transport der Probe unter Einsatz herkömmlicher Probenahme- und Transportsysteme erfolgt sind, die Probe jedoch mit einem automatischen Systemen ausplattiert werden soll, muss vor dem automatisierten Prozessieren der Probe der Tupfer aus dem Röhrchen mit dem Anreicherungsmedium entfernt werden.
14. Konsultieren Sie die Gebrauchsanweisung, die mit dem Gerät geliefert wird oder in elektronischem Format vorliegt und durch den e-IFU-Indikator auf dem Verpackungsetikett gekennzeichnet ist

AUFBEWAHRUNG

CAT-BROTH ist gebrauchsbereit und benötigt keine weitere Vorbereitung. Sie ist bis zur Verwendung in der Originalverpackung bei 5-25°C aufzubewahren. Nicht überhitzen. Nicht vor Gebrauch inkubieren oder einfrieren. Unsachgemäße Aufbewahrung führt zu Wirksamkeitsverlust. Nach dem Umverpackung und Etikett des Röhrchens mit Nährmedium angegebenen Verfalldatum darf dieses nicht mehr verwendet werden.

GÜTEMINDERUNG DES PRODUKTS

CAT-BROTH nicht verwenden, falls das Produkt sichtbare Anzeichen von Beschädigung, Kontamination oder Leckagen aufweist bzw. andere Anzeichen von Güteminderungen vorliegen.

ENTHALTENES MATERIAL

Code	Beschreibung	Verfügbarkeit	Verwendung in automatisiertem System
094CE.A	Röhrchen mit konischem Boden 12x80 mm mit Schraubverschluss, das 2 ml Nährmedium CAT-BROTH enthält	1 Box mit 300 Stck. (6x50 Einheiten)	JA
094CE	Röhrchen mit konischem Boden 12x80 mm mit Schraubverschluss, das 2 ml Nährmedium CAT-BROTH enthält	1 Box mit 300 Stck. (6x50 Einheiten)	NEIN

092CN	Röhrchen mit konischem Boden 16x100 mm mit Schraubverschluss, das 4 ml Nährmedium CAT-BROTH und einen faserumwickelten Tupfer mit Sollbruchstelle in Beutel enthält	1 Box mit 300 Stck. (6x50 Einheiten)	JA
-------	---	--------------------------------------	----

ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

Zusätzliche Kulturplatten, Reagenzien, Organismen für die Qualitätskontrolle, verschiedenes Laborgerät und Beflockte Tupfer in Regelgröße mit Sollbruchstelle bei 80 mm (502CS01), Beflockte Tupfer mit Minitip und Sollbruchstelle bei 80 mm (501CS01)

Hinweis: Falls der Tupfer in automatischen Systemen für das Ausplattieren der Kulturproben verarbeitet werden soll, gilt als für den Gebrauch validiertes Stäbchen der Beflockte Tupfer in Regelgröße mit Sollbruchstelle bei 80 mm (502CS01). Alle anderen Stäbchen – einschließlich des Beflockten Minitip Code 501CS01 – sind vor Eingabe der Probe in den Automaten aus dem Röhrchen zu entfernen.

GEBRAUCHSANLEITUNG

Gewinnung der Proben

Die Proben zur Analyse und Suche nach *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* und Hefen können verschiedener Art sein: Vaginal-, Prostata- oder Hamnröhrensekret.

- Den Verschluss des Röhrchens mit dem Nährmedium lockern.
- Die Probe gewinnen.
- Das Röhrchen öffnen und das Stäbchen sofort hineinstecken.
- Das Stäbchen im Röhrchen an der Sollbruchstelle abbrechen.
- Den Deckel fest aufschrauben.
- Das Röhrchen mit den Daten des Patienten versehen und die Probe an das Analyselabor senden.

Verwendung im Labor

Kultureller Nachweis von *T. vaginalis*: Die Inkubation des Röhrchens bei 35±2°C über 2-7 Tage vornehmen und ab dem zweiten Tag die typische Morphologie unter dem Mikroskop beobachten.

Kultureller Nachweis von Hefen: Die Inokulation der Probe kann entweder direkt oder nach Inkubation im Röhrchen bei 35±2°C über 24h auf geeigneter Nährbodenplatte (z.B. SDA-Platte) erfolgen anhand von:

- Automatischem Aufplattieren;
- Direktem Ausstreichen mit Tupfer.

QUALITÄTSKONTROLLE UND LEISTUNGSMERKMALE

Die Verfahren für die Qualitätskontrolle umfassen die Überprüfung der Systemleistung unter Verwendung reiner Mikrobensuspensionen von ATCC®-Stämmen der beiden mikrobiologischen Zielorganismen *Trichomonas vaginalis* und *Candida albicans* sowie die Überprüfung der Inhibitionsfähigkeit unter Einsatz von *Escherichia coli*.

Anwendungsverfahren:

Überprüfung des Wachstums von *C. albicans*

1. Aus reiner Kultur eines ATCC®-Stamms einen 1,5x10⁸ KBE/ml entsprechenden McF-Standard 0.5 zubereiten.
2. Eine Verdünnung der Bakteriensuspension McF 0.5 zubereiten, die eine Zählung auf Platte von 30-300 KBE in 100 µl ergibt.
3. Aus der so zubereiteten Verdünnung 200 µl Nährmedium gewinnen und das Nährmedium CAT-BROTH damit beimpfen.
4. Das System verschließen und das Röhrchen 10 Sekunden lang bei 2000/2500 RPM mit Vortex mischen.
5. 100 µl zum Zeitpunkt Null (sofort) auf Nährboden in einer geeigneten Platte (z.B. SDA-Platte) geben.
6. Röhrchen und Nullzeitplatte über 24h bei 35±2°C bebrüten.
7. Die Vorrichtung mit CAT-BROTH nach 24 h Bebrütung aus dem Inkubator nehmen.
8. Mit einer Mikropipette und einem Haken die Beimpfung einer Platte (z.B. SDA-Platte) mit 100 µl vornehmen.
9. Die Platten weitere 24 h bei 35±2°C bebrüten.

Kontrolle der Inhibition von *E. coli*

1. Aus reiner Kultur eines ATCC®-Stamms einen 1,5x10⁸ KBE/ml entsprechenden McF-Standard 0.5 zubereiten.
2. Ausgehend von der Bakteriensuspension McF 0.5 eine Verdünnung zubereiten, die ein semi-konfluirendes Wachstum nach der Inokulation von 100 µl auf Platte (0.5 verdünnt 1:100) ergibt.
3. Aus der so zubereiteten Verdünnung 200 µl Nährmedium gewinnen und das Nährmedium CAT-BROTH damit beimpfen.
4. Das System verschließen und das Röhrchen 10 Sekunden lang bei 2000/2500 RPM mit Vortex mischen.
5. 100 µl zum Zeitpunkt Null (sofort) auf Nährboden in einer geeigneten Platte (z.B. SDA-Platte) geben.
6. Röhrchen und Nullzeitplatten über 24h bei 35±2°C bebrüten.
7. Die Vorrichtung mit CAT-BROTH nach 24 h Bebrütung aus dem Inkubator nehmen.
8. Mit einer Mikropipette und einem Haken die Beimpfung einer Platte (z.B. SDA-Platte) mit 100 µl vornehmen.
9. Die Platten weitere 24 h bei 35±2°C bebrüten.

Überprüfung des Wachstums von *T. vaginalis*

1. Die Ampulle bis zur kompletten Deckung des gefrorenen Materials 2-3 Minuten lang in Wasserbad bei 35±2°C tauchen, bis es ganz aufgetaut ist.
2. Gleich nach dem Auftauen den Stamm mit aseptischer Technik in ein Röhrchen mit 13 ml rekonstituierter Bouillon 2154 geben, deren PH durch die Zugabe von 150 µl 1N HCl auf 6,0 justiert worden ist. Das Röhrchen bei 35±2°C in um 15° geneigter Position bebrüten.
3. Empirisch den Höhepunkt der Kulturdichte durch Inspektion unter dem Mikroskop bestimmen, indem die Anzahl vitaler Organismen beurteilt wird (normalerweise 3-4 Tage).
4. Wurde der Höhepunkt der Dichte erreicht, das Röhrchen 10 Minuten lang auf Eis legen. Das Röhrchen behutsam 10 Mal wenden und mit aseptischer Technik 200µl der Suspension in ein Röhrchen mit CAT-BROTH geben; sofort frisch eine mikroskopische Prüfung mit Zählung zum Zeitpunkt Null vornehmen.
5. Das Röhrchen bei 35°C 3 Tage lang bebrüten.
6. Nach 3 Tagen 100 µl entnehmen und unter dem Mikroskop frisch die Präsenz/Anzahl von Protozoen untersuchen.

ERGEBNISSE

ATCC [®] -Stamm	Durchschnitt der nach 0h wiedergefundenen KBE	Durchschnitt der nach 24h wiedergefundenen KBE
<i>C. albicans</i> ATCC [®] 10231	186	Konfluierendes Wachstum
<i>E. coli</i> ATCC [®] 25922	Semi-konfluierendes Wachstum	Inhibition (partiell bis komplett)

ATCC [®] -Stamm	Zählung nach 0 Tagen in 100 µl	Zählung nach 72h in 100 µl
<i>T. vaginalis</i> ATCC [®] 30001	155	> 155

Oben aufgeführte Resultate wurden mit ATCC[®]-Stämmen im Labor erzielt. Die Ergebnisse in der Tabelle sind die Durchschnitte der drei Röhrchen, die nach 24 Stunden für *C. Albicans* und *E. Coli* und nach 72 Stunden für *T. vaginalis* geprüft wurden.

Die erhaltenen Resultate hängen zu einem großen Teil einerseits von der sachgerechten Gewinnung der Probe und andererseits vom Transport und der zeitnahen Analyse im Labor ab.

Français
CAT BROTH
Notice & Mode d'emploi

Consulter le tableau des pictogrammes en fin de notice

UTILISATION PRÉVUE

CAT BROTH est un dispositif pour le maintien et la culture de *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* et autres levures présentes dans des échantillons uro-génitaux.

SOMMAIRE ET PRINCIPES

Parmi les éléments pathogènes responsables des infections génitales, ceux qui sont à l'origine de vaginites sont principalement des bactéries, des mycètes ou des protozoaires. La vaginite mycosique est une des infections génitales les plus fréquentes, dont est responsable dans environ 70-80% des cas la *Candida albicans* et dans 20-30% des cas restants d'autres espèces *non albicans*. L'augmentation de la charge des levures, présente en temps normal au niveau vaginal y compris en conditions de bien-être, due à des facteurs microbiologiques et/ou physiologiques, augmente la probabilité d'apparition de symptômes d'infection en particulier en présence de pseudo-hyphes qui en sont la forme la plus virulente. Le *Trichomonas vaginalis*, un protozoaire flagellé transmis par voie sexuel, est la cause d'une infection du tractus génito-urinaire qui peut être asymptomatique mais qui se manifeste généralement par des symptômes caractéristiques et qui peut s'étendre à l'utérus et aux trompes entraînant une infection pelvienne parfois grave qui, pendant la grossesse, augmente le risque d'accouchement avant terme. Chez les hommes, les symptômes sont moins évidents mais peuvent être à l'origine d'urétrites et de prostatites. Par ailleurs, dans tous les cas, il semble que la susceptibilité au HIV augmente. La méthode la plus commune et rapide pour diagnostiquer la trichomoniose est l'examen microscopique direct de la sécrétion vaginale tandis que les cultures d'échantillons vaginaux et urétraux représentent la technique la plus sensible. L'utilisation d'un terrain permettant le maintien et le développement de *Trichomonas* et de *Candida* représente un instrument utile de diagnostic microbiologique pour l'étude des infections urétro-vaginales permettant d'attester l'étiologie microbienne de la pathologie.

La base protéique qui constitue le terrain fournit la source de carbone et d'azote aminique et est additionnée d'un sérum de cheval qui représente un supplément de croissance et d'un extrait de levure comme source de vitamines du complexe B. Comme agent inhibiteur pour la flore concomitante, le milieu contient un supplément d'antibiotique à large spectre, le chloramphénicol, qui exerce une action inhibitrice sur les bactéries gram négatif et positif alors que la présence des réducteurs favorise les conditions de croissance de l'anaérobiose.

RÉACTIFS
Composition milieu CAT BROTH

Pancreatic digest of Casein
 Yeast Extract
 Glucose
 Sodium Chloride
 L-Cysteine
 Sodium Thioglycollate
 Horse Serum
 Chloramphenicol

AVERTISSEMENTS

1. CAT BROTH est un dispositif jetable destiné à un diagnostic in vitro.
2. Veiller à respecter les précautions approuvées relatives aux substances biologiques potentiellement dangereuses ainsi qu'aux techniques en aseptie.
3. Seul un personnel dûment formé et qualifié est autorisé à utiliser ce produit. Le fabricant décline toute responsabilité en cas d'utilisation par des personnes non autorisées ou non qualifiées.
4. Les échantillons cliniques peuvent contenir des microorganismes pathogènes, y compris le virus de l'hépatite ou de l'immunodéficience humaine. Manipuler tous les matériaux et les accessoires contaminés par du sang et autres fluides biologiques dans le respect des recommandations générales et des précautions standard préconisées par les organismes institutionnels.
5. Tous les échantillons et le matériel utilisés pour l'analyse du produit sont à considérer comme potentiellement infectés et doivent par conséquent être manipulés de façon à éviter tout risque d'infection du personnel de laboratoire. Après l'utilisation, stériliser tous les déchets potentiellement dangereux, y compris les échantillons, les conteneurs, les terrains de transport et la culture.
6. Veiller à respecter scrupuleusement les instructions.
7. Non adapté au transport de microorganismes non indiqués dans l'utilisation prévue.
8. Ne pas ingérer le terrain.
9. Ne pas utiliser le terrain pour pré-humidifier le tampon avant de collecter l'échantillon ni rincer ou irriguer les sites d'échantillonnage.
10. Le produit n'est pas réutilisable : sa réutilisation peut donner lieu à un diagnostic erroné.
11. Ne pas utiliser en cas de dommages évidents.
12. Éviter tout contact de la peau avec le terrain.
13. Dans le cas où le prélèvement et le transport de l'échantillon auraient été effectués à l'aide de systèmes standard de prélèvement et de transport et que l'on entendrait traiter l'échantillon à l'aide de systèmes automatiques de mise sur plaquettes, avant de traiter de la sorte l'échantillon, retirer le tampon du tube contenant le terrain d'enrichissement.
14. Vérifier la version du mode d'emploi. La version correcte est celle fournie avec le dispositif ou disponible au format électronique. Elle peut être identifiée par l'indicateur e-IFU sur l'étiquette de l'emballage.

CONSERVATION

CAT BROTH est prêt à l'emploi et ne nécessite aucune préparation supplémentaire. Il doit être conservé dans son emballage d'origine à 5-25°C jusqu'à son utilisation. Ne pas surchauffer. Ne pas incuber ni congeler avant l'utilisation : une conservation inappropriée entraîne une perte d'efficacité. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'emballage extérieur et sur l'étiquette du tube de terrain.

DÉTÉRIORATION DU PRODUIT

Ne pas utiliser CAT BROTH si le produit présente des signes visibles de détérioration ou de contamination, de une fuite ni en présence d'autres signes de détérioration.

MATÉRIELS FOURNIS

Code	Description	Disponibilité	Utilisation en automatisation
094CE.A	Tube à fond conique 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 2 ml de terrain CAT Broth.	1 boîte de 300 pièces (6x50 unités)	Oui
094CE	Tube à fond conique 12x80 mm avec bouchon à vis contenant 2 ml de terrain CAT Broth.	1 boîte de 300 pièces (6x50 unités)	Non
092CN	Tube à fond conique 16x100 mm avec bouchon à vis contenant 4 ml de terrain CAT Broth et tampon en fibre avec point de fracture, sous enveloppe.	1 boîte de 300 pièces (6x50 unités)	Oui

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Plaquettes de culture d'ancillaires, réactifs, organismes pour le contrôle qualité, instruments divers de laboratoire et tampon floqué Regular avec point de fracture imprimé à 80 mm (502CS01), tampon floqué Minitip avec point de fracture imprimé à 80 mm (501CS01).

NB Dans le cas où le tampon serait traité à l'aide de système automatique de mise sur plaquette des échantillons de culture, la tige validée pour l'utilisation est le Tampon floqué Regular avec point de fracture imprimé à 80 mm (502CS01). Tout autre type de tige – y compris la Tige floquée Minitip code 501CS01 – doit être retirée du tube avant le chargement de l'échantillon sur le système automatique.

INSTRUCTIONS D'UTILISATION

Collecte des échantillons

Les échantillons à analyser pour la recherche de *Thricomonas vaginalis*, *Candida albicans* et de levures peuvent se présenter sous différents formats: exsudat vaginal, sécrétion prostatique, sécrétion urétrale.

- Dévisser le bouchon du tube contenant le terrain de culture.
- Procéder au prélèvement de l'échantillon.
- Ouvrir le tube et introduire immédiatement la tige.
- Rompre la tige à l'intérieur du tube à hauteur du point de fracture.
- Bien revisser le bouchon.
- Identifier le tube en y appliquant les données du patient et envoyer l'échantillon au laboratoire pour les analyses.

Utilisation en laboratoire

Examen de culture pour *T. vaginalis*: Effectuer l'incubation du tube à 35±2°C pendant 2-7 jours et procéder, à partir du deuxième jour, à l'examen microscopique de la morphologie typique.

Examen de culture pour levures: il est possible de procéder à l'ensemencement direct de l'échantillon et/ou après incubation du tube à 35±2°C pendant 24h sur terrain de culture approprié sur plaquette (par exemple, SDA plate) qui peut être effectué par l'un des moyens suivants:

- Mise sur plaquette automatique;
- Ensemencement direct avec tampon.

CONTRÔLE QUALITÉ ET PERFORMANCES

Les procédures de contrôle qualité incluent le contrôle des performances du système, en utilisant des suspensions microbiennes pures de souches ATCC® des deux agents microbiologiques cibles *Trichomonas vaginalis* et *Candida albicans* et le contrôle de la capacité inhibitrice en utilisant l'*Escherichia coli*.

Procédures appliquées:

Contrôle croissance avec *C. albicans*

1. A partir d'une culture pure d'une souche ATCC®, préparer 0.5 McF correspondant à 1,5x10⁸ UFC/ml.
2. Préparer une dilution de la suspension bactérienne 0.5 McF, permettant un décompte sur plaquette de 30-300 UFC en 100 µl.
3. Récupérer de la dilution ainsi préparée 200 µl de terrain et inoculer le terrain CAT Broth.
4. Fermer le système et agiter le tube pendant 10 secondes à 2 000/2500 tr/min.
5. Mettre sur plaquette 100 µl à temps zéro (immédiatement) sur terrain de culture sur plaquette approprié (par exemple, SDA plates).
6. Incuber le tube et les plaquettes à temps zéro pendant 24 h à 35±2°C.
7. Au bout de 24 h d'incubation, récupérer le dispositif CAT Broth de l'incubateur.
8. En utilisant une micro-pipette et un spreader, procéder à l'ensemencement de la plaquette (par exemple SDA) de 100 µl.
9. Incuber les plaquettes pendant encore 24 h à 35±2°C.

Contrôle d'inhibition avec *E. coli*

1. A partir d'une culture pure d'une souche ATCC®, préparer 0.5 McF correspondant à 1,5x10⁸ ufc/ml.
2. Préparer une dilution de la suspension bactérienne 0.5 McF, permettant une croissance semi-confluente après ensemencement de 100 µl sur plaquette (0.5 dilué 1:100)
3. Récupérer de la dilution ainsi préparée 200 µl de terrain et inoculer le terrain CAT Broth.
4. Fermer le système et agiter le tube pendant 10 secondes à 2 000/2500 tr/min.
5. Mettre sur plaquette 100 µl à temps zéro (immédiatement) sur terrain de culture sur plaquette approprié (par exemple, SDA plates).
6. Incuber le tube et les plaquettes du temps zéro pendant 24 h à 35±2°C.
7. Au bout de 24 h d'incubation, récupérer le dispositif CAT Broth de l'incubateur.
8. En utilisant une micro-pipette et un spreader, procéder à l'ensemencement de la plaquette (par exemple SDA) de 100 µl.
9. Incuber les plaquettes pendant encore 24 h à 35±2°C.

Contrôle croissance avec *T. vaginalis*

1. Immerger le récipient jusqu'à couverture complète du produit congelé dans un bain-marie à 35±2°C pendant 2-3 minutes jusqu'à la décongélation complète.
2. Aussitôt après la décongélation, transférer en conditions d'asepsie la souche dans un tube contenant 13 ml de Bouillon 2154 reconstitué et porté à pH 6.0 par ajout de 150 µL de 1N HCl. Incuber le tube à 35±2°C en position inclinée de 15°.
3. Établir empiriquement le pic de densité de la culture par inspection microscopique en évaluant le nombre d'organismes vitaux (en général 3-4 jours).
4. Une fois le pic de densité atteint, placer le tube dans la glace pendant 10 minutes. Retourner délicatement le tube 10 fois et transférer en conditions d'asepsie 200 µL de la suspension dans un tube de CAT broth et effectuer aussitôt un examen microscopique direct en effectuant un décompte à temps zéro.
5. Incuber le tube à 35°C pendant 72 h.
6. Au bout de 72 h, récupérer 100 µl et contrôler à travers un examen microscopique direct la présence et la quantité du protozoaire.

RÉSULTATS

Souche ATCC®	Moyenne d'UFC récupérées à 0 heure	Moyenne UFC récupérées à 24 heures
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Croissance confluite
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Croissance semi-confluente	Inhibition (de partielle à totale)

Souche ATCC®	Décompte moyenne au temps zéro dans 100 µl	Décompte moyenne à 24 heures dans 100 µl
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	> 155

Les résultats des tests cités ont été obtenus avec des souches ATCC® en laboratoire. Les résultats sont exprimés comme des moyennes obtenues à partir des trois tubes testés à 24 heures pour *C. Albicans* et *E. coli*, et à 72 heures pour *T. Vaginalis*.

La fiabilité des résultats obtenus dépend pour beaucoup d'un recueil et d'un transport adéquats de l'échantillon, ainsi que d'une analyse réalisée en temps utile par le laboratoire.

CAT BROTH**Folheto Informativo & Guia para utilização**

Ver glossário dos símbolos no fim do folheto informativo

USO PREVISTO

CAT BROTH é um dispositivo próprio para conservação e cultura de *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* e outras leveduras presentes nas amostras urogenitais.

SUMÁRIO E FUNDAMENTOS

Entre os organismos patogénicos responsáveis por patologia infecciosa genital, os que determinam a ocorrência de vaginites são essencialmente bactérias, fungos e protozoários. A micose vaginal é uma das infeções genitais mais frequentes, sendo a *Candida albicans* responsável por cerca de 70-80% dos casos e os restantes 20-30% atribuíveis a outras espécies não *albicans*. O aumento da quantidade de levedura, habitualmente presente a nível vaginal mesmo em condições de bem-estar, devida a fatores microbiológicos e/ou fisiológicos aumenta a probabilidade de instauração dos sintomas de infeção, sobretudo quando se manifestam as pseudo-hifas que representam a sua forma virulenta. A *Trichomonas vaginalis*, um protozoário flagelado sexualmente transmissível, é a causa de uma infeção do sistema genito-urinário que pode ser assintomática mas também pode manifestar-se com uma sintomatologia característica e pode afetar o útero e as trompas causando infeção pélvica, às vezes grave, e aumentando o risco de parto prematuro em gravidez. Nos homens os sintomas são menos evidentes mas pode causar uretrites e prostatites. Em todo o caso, parece que aumenta a suscetibilidade ao HIV. O método mais comum e rápido para diagnosticar a tricomoniase é o exame microscópico direto da secreção vaginal, enquanto as culturas de amostras vaginais e uretrais representam a técnica mais sensível. A utilização de um meio que permita conservar e desenvolver *Trichomonas* e *Candida* é um instrumento útil para rastreio diagnóstico microbiológico no estudo das infeções uretro-vaginais destinado a determinar a etiologia microbiana da patologia.

A base proteica do meio de cultura fornece as fontes de carbono e azoto amínico e é adicionada de soro de cavalo, que representa o suplemento de crescimento, e de extrato de levedura, como fonte de vitaminas do complexo B. O meio de cultura contém como agente inibidor da flora associada um suplemento antibiótico de largo espectro, cloranfenicol, que inibe as bactérias Gram negativas e positivas, enquanto que a presença de redutores favorece as condições de desenvolvimento anaeróbico.

REAGENTES**Composição do meio CAT BROTH**

Digerido pancreático de caseína
Extrato de levedura
Glucose
Cloreto de sódio
L-Cisteína
Tioglicolato de sódio
Soro de cavalo
Cloranfenicol

ADVERTÊNCIAS

1. CAT BROTH é um dispositivo de utilização única para diagnóstico *in vitro*.
2. Observar as precauções aprovadas relativamente aos materiais biológicos potencialmente perigosos e às técnicas de assepsia.
3. O uso do produto deve ser limitado a pessoal devidamente treinado e qualificado. O fabricante declina qualquer responsabilidade decorrente da sua utilização por pessoas não qualificadas ou não autorizadas.
4. As amostras clínicas podem conter microrganismos patogénicos, incluindo vírus de hepatite ou de imunodeficiência humana. Manipular todos os materiais e artigos contaminados com sangue e outros fluidos biológicos segundo as linhas orientadoras e as «precauções padrão» definidas pelos organismos institucionais.
5. Todas as amostras e materiais utilizados para análise do produto devem ser considerados potencialmente infetados e, como tal, tratados de modo a evitar riscos de infeção do pessoal de laboratório. Após utilização, esterilizar todos os resíduos potencialmente perigosos, incluindo amostras, recipientes e meios de cultura.
6. Seguir escrupulosamente as instruções.
7. Não indicado para transporte de microrganismos não incluídos no uso previsto do dispositivo.
8. Não ingerir o meio de cultura.
9. Não utilizar o meio de cultura para pré-humedecer a zaragatoa antes de colher a amostra, nem enxaguar ou irrigar os locais de amostragem.
10. O produto não é reutilizável. A sua reutilização pode dar ao diagnóstico incorretos.
11. Não utilizar se houver sinais evidentes de danos no produto
12. Evitar o contacto da pele com o meio de cultura
13. Se a colheita e o transporte da amostra tiverem sido realizados utilizando sistemas comuns de colheita e transporte e pretendendo processar a amostra com sistemas automáticos de plaqueamento, é necessário remover a zaragatoa do tubo que contém o meio de enriquecimento, antes de processar a amostra.
14. Verifique a versão das instruções de utilização. A versão correta é a fornecida com o dispositivo ou disponibilizada em formato eletrónico e que pode ser identificada pelo indicador e-IFU na etiqueta da embalagem.

CONSERVAÇÃO

CAT BROTH está pronto a ser usado e não necessita de preparações posteriores. Deve ser conservado na embalagem original a 5-25°C até ao momento de ser utilizado. Não sobreaquecer. Não incubar ou congelar antes de usar. A conservação não apropriada do produto determina a sua perda de eficácia. Não utilizar passado o prazo de validade indicado na embalagem exterior e no rótulo do tubo do meio de cultura.

DETERIORAÇÃO DO PRODUTO

Não utilizar CAT BROTH se o produto apresentar sinais visíveis de dano ou contaminação, de fuga, ou perante outros sinais de deterioração.

MATERIAL INCLuíDO

Código	Descrição	Apresentação	Uso em sistemas automatizados
094CE.A	Tubo com fundo cônico 12x80mm com tampa de rosca, contendo 2 ml de meio CAT Broth	1 caixa de 300 unid. (6X50 unidades)	Sim
094CE	Tubo com fundo cônico 12x80mm com tampa de rosca, contendo 2 ml de meio CAT Broth	1 caixa de 300 unid. (6X50 unidades)	Não
092CN	Tubo com fundo cônico 16x100mm e tampa de rosca, contendo 4 ml de meio CAT Broth e zaragatoa de fibra enrolada com ponto de fratura, em invólucro.	1 caixa de 300 unid. (6X50 unidades)	Sim

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO INCLuíDOS

Placas de cultura adicionais, reagentes, organismos para o controlo de qualidade, vários instrumentos de laboratório e Zaragatoa Flocada Regular com ponto de fratura gravado a 80 mm (502CS01), Zaragatoa Flocada Minitip com ponto de fratura gravado a 80 mm (501CS01)

NB: Se o tampão for processado com sistemas automatizados para plaqueamento de amostras para cultura, a zaragatoa apropriada é a Flocada Regular com ponto de fratura gravado a 80 mm (502CS01). Quaisquer outras zaragatoas – incluindo a Flocada Minitip com código 501CS01 – deverão ser retiradas do tubo antes de colocar a amostra no sistema automatizado.

INSTRUÇÕES PARA UTILIZAÇÃO

Colheita das amostras

As amostras a analisar para pesquisa de *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* e leveduras podem apresentar-se sob diversos formatos: exsudado vaginal, secreção prostática e secreção uretral.

- Desapertar a tampa do tubo que contém o meio de cultura.
- Proceder à colheita da amostra.
- Abrir o tubo e introduzir imediatamente a zaragatoa.
- Partir a zaragatoa dentro do tubo no ponto de fratura indicado.
- Apertar muito bem a tampa.
- Identificar o tubo com os dados do doente e enviar a amostra ao laboratório de análises.

Uso em laboratório

Exame cultural para pesquisa de *T. vaginalis*: Proceder à incubação do tubo a 35±2°C durante 2-7 dias e, a partir do segundo dia, observar ao microscópio a morfologia típica.

Exame cultural para pesquisa de leveduras: a amostra pode ser semeada diretamente e/ou após incubação do tubo a 35±2°C, durante 24h, em placa com meio de cultura apropriado (i.e. SDA plate). A sementeira pode ser realizada por:

- Plaqueamento automático;
- Sementeira direta com zaragatoa.

CONTROLO DE QUALIDADE E CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Os processos de controlo de qualidade compreendem a verificação do desempenho do sistema, utilizando suspensões microbianas puras de estirpes ATCC® dos dois agentes microbiológicos alvo, *Trichomonas vaginalis* e *Candida albicans*, e a verificação da capacidade inibidora, utilizando *Escherichia coli*.

Processos aplicados:

Verificação do desenvolvimento com *C. albicans*

- Da cultura pura de uma estirpe ATCC®, preparar 0.5 McF correspondentes a 1,5x10⁸ UFC/ml.
- Preparar uma diluição da suspensão bacteriana de 0.5McF que possa dar uma contagem em placa equivalente a 30-300 UFC em 100 µl .
- Da diluição assim preparada retirar 200 µl de meio e inocular em CAT broth
- Fechar o sistema e vortexar o tubo durante 10 segundos a 2000/2500 RPM
- Plaquear 100 µl a tempo zero (imediatamente) numa placa com meio de cultura apropriado (i.e. SDA plates).
- Incubar o tubo e as placas de tempo zero a 35±2°C, durante 24 h
- Após 24 horas de incubação, retirar o dispositivo CAT broth do incubador
- Com uma micropipeta e uma espalhadora semear a placa (i. e. SDA) com 100 µl
- Incubar as placas durante mais 24 h a 35±2°C.

Controlo de inibição com *E. coli*

- Da cultura pura de uma estirpe ATCC®, preparar 0.5 McF correspondentes a 1,5x10⁸ ufc/ml.
- Preparar uma diluição da suspensão bacteriana de 0.5McF que possa dar um crescimento semiconfluente depois de semear a placa com 100 µl (0.5 diluído na proporção de 1:100)
- Da diluição assim preparada, retirar 200 µl de meio de cultura e inocular em CAT broth
- Fechar o sistema e vortexar o tubo durante 10 segundos a 2000/2500 RPM
- Plaquear 100 µl a tempo zero (imediatamente) numa placa com meio de cultura apropriado (i.e. SDA plates).
- Incubar o tubo e as placas de tempo zero a 35±2°C, durante 24 h
- Após 24 horas de incubação, retirar o dispositivo CAT broth do incubador
- Com uma micropipeta e uma espalhadora semear a placa (i. e. SDA) com 100 µl
- Incubar as placas durante mais 24 h a 35±2°C.

Verificação do crescimento com *T. vaginalis*

1. Mergulhar a ampola até o material congelado ficar totalmente submerso em banho-maria a 35±2°C, durante 2-3 minutos, até descongelar completamente.
2. Imediatamente após descongelação, transferir a estirpe, aseticamente, para um tubo contendo 13mL de Caldo 2154 reconstituído e levado a pH 6.0 por adição de 150µL de 1N HCl. Incubar o tubo a 35±2°C e inclinado 15°.
3. Determinar empiricamente o pico de densidade da cultura por inspeção microscópica, avaliando o número de organismos vitais (normalmente 3-4 dias);
4. Ao ser atingido o pico de densidade, colocar o tubo em gelo durante 10 minutos. Inverter suavemente o tubo 10 vezes e transferir, aseticamente, 200µL de suspensão para um tubo CAT broth, fazendo imediatamente uma contagem a fresco ao microscópio, a tempo zero.
5. Incubar o tubo a 35°C, durante 72 h.
6. Ao fim de 72h, retirar 100 µl e verificar com exame microscópico a fresco, a presença /quantidade do protozoário.

RESULTADOS

Estirpe ATCC [®]	Media de UFC recuperadas a 0 hora	Media de UFC recuperadas a 24 horas
<i>C. albicans</i> ATCC [®] 10231	186	Crescimento confluyente
<i>E. coli</i> ATCC [®] 25922	Crescimento semiconfluyente	Inibição (de parcial a total)

Estirpe ATCC [®]	Contagem media a 0 hora em 100 µl	Contagem media a 72 horas em 100 µl
<i>T. vaginalis</i> ATCC [®] 30001	155	>155

Os resultados do teste foram obtidos com estirpes ATCC[®] no laboratório. Os resultados obtidos estão expressos no quadro como as médias obtidas a partir dos três tubos a 24 horas para *C. albicans* e *E. coli*, e a 72 horas para as *T. vaginalis*

Os resultados obtidos dependem largamente da colheita apropriada e adequada da amostra e ainda do transporte e análise atempada em laboratório.

Česky

CAT BROTH**Příbalový leták & Návod k použití**

Viz slovníček symbolů na konci tohoto příbalového letáku

PŘEDPOKLÁDANÉ POUŽITÍ

CAT BROTH je pomůcka pro udržování a kulturu *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* a dalších kvasinek přítomných v urogenitálních vzorcích.

OBSAH A PRINCIPY

Mezi patogeny způsobujícími infekční onemocnění pohlavních orgánů vznik pohlavních zánětů způsobují hlavně bakterie, plísňe nebo prvoci. Plísňový pohlavní zánět je jedním z nejčastějších infekcí pohlavních orgánů. Zhruba v 70 až 80% případech je způsobený kvasinkou *Candida albicans* a ve zbývajících 20-30% jinými druhy než *albicans*.

Přemnožení kvasinek, které jsou běžně přítomné v pochvě i za zdravého stavu, způsobené mikrobiologickými a/nebo fyziologickými faktory, zvyšuje pravděpodobnost, že se objeví příznaky infekce, zvláště když se objeví pseudohyphae, které jsou její virulentní formou. *Trichomonas vaginalis*, sexuální přenosný bičíkatý prvok, je příčinou infekce urogenitálního traktu, která může být i bez příznaků nebo se může také projevit s charakteristickými příznaky a může se rozšířit do dělohy a vejcovodů a způsobit pánevní infekci, v některých případech závažnou, a v těhotenství zvyšuje riziko předčasného porodu. U mužů jsou příznaky méně zjevné, ale může způsobovat záněty močové trubice a prostaty. V každém případě se zdá, že zvyšuje náchylnost k HIV. Nejběžnější a nejrychlejší způsob používaný pro diagnózu trichomoniázy je přímé mikroskopické vyšetření poševního sekretu, zatímco kultury poševních a uretrálních vzorků představují citlivější techniku. Využití půdy, která umožňuje udržování a růst *Trichomonas* a *Candida*, je užitečným nástrojem pro mikrobiologické diagnostické vyšetření pro studium uretro-poševních infekcí, které prozrazují mikrobiální etiologii onemocnění.

Proteinový základ, z něhož se skládá půda, je zdrojem uhlíku a aminokyselin. Přidává se do něho koňské sérum, které představuje růstový doplněk, a kvasničný extrakt jako zdroj vitamínů B-komplexu. Půda obsahuje jako inhibiční činidlo pro konkomitantní flóru doplněk širokospektrálního antibiotika - chloramfenikol, s inhibičním účinkem vůči pozitivním a gramnegativním bakteriím, zatímco přítomnost redukčních činidel podporuje podmínky růstu anaerobních organismů.

REAGENCIE

Složení pŮdy CAT BROTH

Pankreatický výtažek z kaseinu
Výtažek z kvasnic
Glukóza
Chlorid sodný
L-Cystein
Thioglykolát sodný
Koňské sérum
Chloramfenikol

OPATŘENÍ

- CAT BROTH je pomůcka k jednorázovému použití určená k diagnostickému použití in vitro.
- Dodržujte schválená opatření týkající se potenciálně nebezpečných biologických materiálů a rovněž aseptických technik.
- Pomůcku může používat pouze vhodně zaškolený a kvalifikovaný personál. Výrobce se zřídka jakékoliv odpovědnosti vyplývající z použití pomůcky nekvalifikovanými nebo neoprávněnými osobami.
- Klinické vzorky mohou obsahovat patogenní mikroorganismy, včetně viru hepatitidy nebo lidské imunodeficiency. Se všemi předměty kontaminovanými krví a jinými tělními tekutinami manipulujte v souladu s obecnými zásadami a „standardními bezpečnostními opatřeními“ předepsanými institucionálními orgány.
- Všechny vzorky a materiály použité k analýze výrobku jsou považovány za potenciálně infekční, a proto musí být s nimi nakládáno tak, aby se zabránilo riziku nákazy laboratorních pracovníků. Po použití sterilizujte všechny potenciálně nebezpečný odpad, včetně vzorků, nádob a přepravních a kultivačních pŮd.
- Důsledně dodržujte pokyny.
- Není vhodná pro přepravu mikroorganismů, které nejsou zahrnuty v zamýšleném použití.
- PŮdu nepožívejte.
- Nepoužívejte pŮdu pro navlhčení tamponu před odebráním vzorku a neproplachujte nebo nepolévejte místa odběru vzorků
- Výrobek nelze znovu použít, opětovné použití by mohlo vést k nesprávné diagnóze.
- Nepoužívejte v případě viditelných známek poškození
- Vyvarujte se styku pokožky s pŮdou
- Pokud by se odběr a přeprava uskutečňovaly pomocí běžných systémů odběru a přepravy a vzorek by měl být zpracováván pomocí automatických systémů ukládání do misek, před automatickým zpracováním bude třeba odstranit tampon ze zkumavky obsahující obohacenou pŮdu.
- Zkontrolujte verzi návodu k použití. Správná je verze dodaná spolu s přístrojem nebo dostupná v elektronické podobě po zadání ukazatele e-IFU dle štítku na obalu

UCHOVÁVÁNÍ

CAT BROTH je připraven k použití a nevyžaduje další přípravy. Musí být uchováván v originálním obalu při 5-25°C až do okamžiku použití. Nepřehřívejte. Neprovádějte inkubaci nebo nezmrazujte před použitím, nesprávné uchovávání způsobuje ztrátu účinnosti. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti vyznačené na vnějším obalu a na štítku zkumavky pro pŮdu.

POŠKOZENÍ VÝROBKU

Jestliže CAT BROTH vykazuje viditelné známky poškození nebo kontaminace, propouštění nebo při výskytu jiných známek poškození výrobek nepoužívejte.

OBSAŽENÝ MATERIÁL

Kód	Popis	Disponibilita	Použití v automatických systémech
094CE.A	Zkumavka s konickým dnem 12x80mm se šroubovacím uzávěrem obsahující 2 ml pŮdy CAT Broth	1 krabice 300 ks (6X50 jednotek)	Ano
094CE	Zkumavka s konickým dnem 12x80mm se šroubovacím uzávěrem obsahující 2 ml pŮdy CAT Broth	1 krabice 300 ks (6X50 jednotek)	Ne
092CN	Zkumavka s konickým dnem 16x100 mm se šroubovacím uzávěrem obsahující 4 ml pŮdy CAT Broth a tampon z obaleného vlákna s bodem zlomu v sáčku.	1 krabice 300 ks (6X50 jednotek)	Ano

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU ZAHNUTY

Pomocné kultivační misky, reagentie, organismy pro kontrolu jakosti, různé laboratorní vybavení a flockovaný tampon regular s předtíštěným bodem zlomu v 80 mm (502CS01), flockovaný tampon minitip s předtíštěným bodem zlomu v 80 mm (501CS01)

POZN. Jestliže bude tampon zpracováván automatickými systémy pro ukládání vzorků do kultivačních misek, tyčinka validovaná pro použití je flockovaný tampon regular s předtíštěným bodem zlomu v 80 mm (502CS01). Jakýkoliv jiný typ tyčinky, včetně flockovaného minitipu kód 501CS01, bude muset být odstraněn z trubičky před vložením vzorku do automatického systému.

NÁVOD K POUŽITÍ

Odběr vzorků

Vzorky, které mají být analyzovány za účelem vyhledávání *Thricomonas vaginalis*, *Candida albicans* a kvasinek, se mohou prezentovat v různých formátech: pŮsevní exsudát, prostatitický sekret, uretrální sekret.

- Odsroubujte uzávěr zkumavky obsahující kultivační pŮdu.
- Odeberte vzorek.
- Otevřete zkumavku a okamžitě do ní vložte tyčinku.
- Ulomte tyčinku uvnitř zkumavky v označeném bodě zlomu.
- Pevně zašroubujte uzávěr.
- Označte zkumavku údaji o pacientovi a pošlete vzorek do laboratoře k analýze.

Použití v laboratoři

Kultivační vyšetření pro *T. vaginalis*: Provádějte inkubaci zkumavky při $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ po dobu 2-7 dní a od druhého dne provádějte mikroskopická pozorování typické morfologie.

Kultivační vyšetření pro kvasinky: je možné provést přímé očkování vzorku a/nebo po inkubaci zkumavky při $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ po dobu 24h na vhodnou kultivační půdu do misky (i.e. SDA plate), lze provést pomocí:

- Automatického ukládání do misek;
- Přímého očkování tamponem.

KONTROLA JAKOSTI A VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Postupy kontroly jakosti zahrnují kontrolu výkonu systému za použití čistých mikrobiálních suspenzí kmenů ATCC® dvou cílových mikrobiologických čidel *Trichomonas vaginalis* a *Candida albicans* a ověření inhibiční schopnosti za použití *Escherichia coli*.

Použité postupy:

Kontrola růstu s *C. albicans*

1. Z čisté kultury kmene ATCC® připravte jeden 0.5 McF odpovídající $1,5 \times 10^8$ ufc/ml.
2. Připravte roztok z bakteriální suspenze 0.5McF, v kterém můžete napočítat 30-300 UFC v 100 μl na misku.
3. Z takto připraveného roztoku odeberte 200 μl půdy a proveďte inokulaci půdy CAT Broth
4. Uzávěřte systém a míchejte trubičku po dobu 10 sekund při 2000/2500 RPM
5. Vložte 100 μl po nule hodin (okamžitě) do kultivační půdy vhodné misky (i.e.SDA plates).
6. Provádějte inkubaci trubičky a misek po nule hodin po dobu 24 h při $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
7. Po 24 h inkubace odstraňte pomůcku CAT Broth z inkubátoru
8. Pomocí mikropipety a spreaderu proveďte očkování 100 μl do misky (i. e. SDA).
9. Provádějte inkubaci misek po dobu dalších 24 h při $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

Kontrola inhibice s *E. coli*

1. Z čisté kultury kmene ATCC® připravte jeden 0.5 McF odpovídající $1,5 \times 10^8$ ufc/ml.
2. Připravte roztok z bakteriální suspenze 0.5McF, která může poskytnout semikonfluentní růst po očkování 100 μl do misky (0.5 zředěno 1:100)
3. Z takto připraveného roztoku odeberte 200 μl půdy a proveďte inokulaci půdy CAT Broth
4. Uzávěřte systém a míchejte trubičku po dobu 10 sekund při 2000/2500 RPM
5. Vložte 100 μl po nule hodin (okamžitě) do kultivační půdy vhodné misky (i.e.SDA plates).
6. Provádějte inkubaci trubičky a misek po nule hodin po dobu 24 h při $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
7. Po 24 h inkubace odstraňte pomůcku CAT Broth z inkubátoru
8. Pomocí mikropipety a spreaderu proveďte očkování 100 μl do misky (i. e. SDA)
9. Provádějte inkubaci misek po dobu dalších 24 h při $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

Kontrola růstu s *T. vaginalis*

1. Ponořte ampuli do vodní lázně o teplotě $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ tak, aby byl zmrazený materiál úplně pokryt, a ponechte ji 2-3 minuty, až do jeho úplného rozmrazení
2. Okamžitě po rozmrazení aseptickým způsobem přeneste kmen do zkumavky obsahující 13mL rekonstituovaného bujonu 2154 přivedeného na hodnotu pH 6.0 přidáním 150 μL 1N HCl. Proveďte inkubaci zkumavky při $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ v poloze nakloněné o 15° .
3. Empiricky určete vrchol hustoty kultury pomocí mikroskopického pozorování posouzením počtu živých organismů (obvykle 3-4 dny);
4. Po dosažení vrcholu hustoty umístěte zkumavku na 10 minut do ledu. Opatrně desetkrát obraťte zkumavku a aseptickým způsobem přeneste 200 μL suspenze do zkumavky CAT Broth, okamžitě proveďte mikroskopické vyšetření v chladu a počítání po nule hodin
5. Provádějte inkubaci zkumavky při 35°C po dobu 72h.
6. Po 72h odeberte 100 μl a mikroskopickým vyšetřením v chladu zkontrolujte přítomnost/početnost prvka.

VÝSLEDKY

Kmen ATCC®	Průměrné UFC odebrané po 0 hodin	Průměrné UFC odebrané po 24 hodinách
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Konfluentní růst
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Nekonfluentní růst	Inhibice (od částečné po celkovou)

Kmen ATCC®	Průměrné počítání po 0 hodin v 100 μl	Průměrné počítání po 72 hodinách v 100 μl
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	> 155

Výsledky testu byly získány s kmeny ATCC® v laboratoři. Výsledky jsou vyjádřeny v tabulce jako průměrné hodnoty získané ze tří testovaných zkumavek po 24 hodinách pro *C. albicans* a *E. coli*, a po 72 hodinách pro *T. vaginalis*.

Získané výsledky velmi závisí na řádně a adekvátně provedeném odběru vzorku, a rovněž i na přepravě a včasné analýze v laboratoři.

CAT BOUILLON

Indlægsseddel og brugervejledning

Se symbolforklaring sidst i indlægssedlen.

TILSIGTET BRUG

CAT BOUILLON er et medie til opbevaring og dyrkning af *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* og andre gærtyper, der måtte findes i urogenitale prøver.

SAMMENFATNING OG PRINCIPPER

Blandt de patogener, der er ansvarlige for infektiøs genital sygdom, er de, der er ansvarlige for indtræden af vaginitis hovedsagelig bakterier, svampe og protozoer. Mykotiske vaginitis er en af de hyppigste genitale infektioner, i omkring 70-80% af tilfældene forårsaget af *Candida albicans* og af andre arter i de resterende 20-30%. En stigning i gærmængden - som normalt er til stede i vagina, selv hvis denne er sund - på grund af mikrobiologiske og/eller fysiologiske faktorer øger sandsynligheden for infektionssymptomer, især når, den mest ondartede form, pseudohyphae, manifesterer sig. *Trichomonas vaginalis*, en seksuelt overført flagellat-protozo, er årsag til infektion i det urogenitale system, som kan være asymptomatisk, men kan også manifestere sig med en karakteristisk symptomatologi og kan brede sig til livmoderen og æggestokkene og kan til tider forårsage alvorlige bækkeninfektioner samt øge risikoen for for tidlig fødsel hos gravide kvinder. Symptomerne er mindre tydelig i mænd, men kan forårsage urethritis og prostatitis. Under alle omstændigheder fremgår det, at den øger modtageligheden for HIV. Den mest almindelige og hurtigste metode til at diagnosticere trichomoniasis med er direkte mikroskopisk undersøgelse af vaginal sekretion, mens den mest følsomme teknik er undersøgelse af vaginale og uretrale prøvekulturer. Anvendelse af et dyrkningsmedium, der tillader at bevare *trichomonas* og *candida* og lade dem gro, er et nyttigt værktøj til mikrobiologiske diagnostiske undersøgelser for at studere uretrovaginale infektioner med henblik på at fastslå sygdommens mikrobielle ætiologi.

Proteinbasen, der udgør mediet, tilvejebringer kilden til carbon og aminnitrogen, til hvilket der er tilføjet hesteserum som vækstsupplement og gærekstrakt som kilde til vitamin B-kompleks. Mediet indeholder et bredt-spektrert antibiotikum-supplement (chloramphenicol) som hæmmende middel for samtidig flora med en inhiberende virkning i retning af gramnegative og grampositive bakterier, mens tilstedeværelsen af reducerende midler favoriserer de anaerobe vækstbetingelser.

REAGENSER

Sammensætning af CAT BOUILLON

Pankreatisk kaseinopløsning
Gærekstrakt
Glukose
Natriumklorid
L-Cystein
Natriumthioglycollat
Hesteserum
Kloramfenikol

ADVARSLER

1. CAT BOUILLON er et engangsmedie, beregnet til in vitro diagnostisk brug.
2. Overhold de godkendte sikkerhedsforanstaltninger for potentielt farlige biologiske materialer og aseptisk teknik.
3. Denne enhed må kun benyttes af tilstrækkeligt uddannet og kvalificeret personale. Producenten fralægger sig ethvert ansvar for brug af ukvalificerede eller uautoriserede personer.
4. De kliniske prøver kan indeholde patogene mikroorganismer, herunder hepatitis- eller human immunodefekt virus. Håndter alle materialer og genstande, der er kontamineret med blod og andre biologiske væsker, i overensstemmelse med de retningslinjer og "standard forholdsregler", der er udstukket af de institutionelle organer.
5. Alle prøver og materialer, der anvendes til produktanalysen, skal betragtes som potentielt inficeret og derfor håndteres på en måde, der forhindrer infektion af laboratoriepersonale. Efter brug skal alt biologisk farligt affald, herunder prøver, beholdere og dyrkningsmedier, steriliseres.
6. Følg instruktionerne nøje.
7. Enheden er ikke egnet til transport af mikroorganismer, der ikke er inkluderet i den påtænkte anvendelse.
8. Dyrkningsmediet må ikke indtages.
9. Undlad at bruge kulturmediet til forudgående befugtning af swabben forud for indsamlingen af prøven eller til skylning eller vanding af prøveudtagningsstederne.
10. Produktet kan ikke genbruges; genbrug kan resultere i fejlagtig diagnose.
11. Brug ikke enheden, hvis der er tydelige tegn på skader.
12. Undgå hudkontakt med dyrkningsmediet.
13. Hvis prøven er taget og transporteres ved hjælp af fælles prøveudtagnings- og transportsystemer og skal behandles med automatiske podningssystemer, skal swabben inden behandling fjernes fra reagensglasset med berigelsesmedium.
14. Kontrollér versionen af brugsvejledningen. Den korrekte version er den, der leveres med enheden eller fås i elektronisk format og identificeres ved e-IFU-indikatoren på emballagemærkatet.

OPBEVARING

CAT BOUILLON er klar til brug og kræver ingen yderligere forberedelser. Det skal opbevares i den originale emballage ved 5-25°C indtil anvendelsestidspunktet. Må ikke overophedes. Må ikke inkuberes eller nedfryses inden brug. Ukorrekt opbevaring kan føre til tab af virksomhed. Må ikke anvendes efter den udløbsdato, der er trykt på den eksterne pakke og på etiketten af kulturmediets reagensglas.

PRODUKTFORRINGELSE

Undlad at anvende CAT BOUILLON, hvis den viser synlige tegn på skader eller kontaminering, lækage eller andre tegn på nedbrydning.

PAKKENS INDHOLD

Kode	Beskrivelse	Tilgængelighed	Brug i automat
094CE.A	12x80 mm reagensglas med konisk bund og skruelåg indeholdende 2 ml CAT BROTH medie	1 æske med 300 stk. (6x50 enheder)	Ja
094CE	12x80 mm reagensglas med konisk bund og skruelåg indeholdende 2 ml CAT BROTH medie	1 æske med 300 stk. (6x50 enheder)	Nej
092CN	16x100 mm reagensglas med konisk bund og skruelåg indeholdende 4 ml CAT BROTH medie samt fiberswab med brudpunkt i en pose.	1 æske med 300 stk. (6x50 enheder)	Ja

PAKRÆVET MATERIALE, SOM IKKE ER INKLUDERET

Supplerende dyrkningsplader, reagenser, organismer til kvalitetskontrol, forskellige laboratorieinstrumenter, Regular Flocked Swab med forstøbt brudpunkt ved 80 mm (502CS01), Minitip Flocked Swab med forstøbt brudpunkt ved 80 mm (501CS01).

BEMÆRK: Hvis vatpinden behandles med automatiske podnings systemer for kulturprøver, er Regular Flocked Swab med forstøbt brudpunkt ved 80 mm (502CS01) valideret til brug. Enhver anden form for swab - herunder Minitip Flocked Swab (kode 501CS01) - skal fjernes fra røret, før prøven sættes i det automatiske system.

BRUGSANVISNING

Prøvetagning

De prøver, der skal analyseres for at søge efter *Thricomonas vaginalis*, *Candida albicans* og andre gærtyper kan være i forskellige former: vaginal eksudat, prostatasekretion, uretral sekretion.

- Løsn hæften af reagensglasset med dyrkningsmediet.
- Opsaml prøven.
- Åbn reagensglasset, og isæt straks swabben.
- Bryd swabpinden inde i reagensglasset ved det angivne brudpunkt.
- Skru hæften fast på igen.
- Mærk reagensglasset med patientens data, og send prøven til laboratoriet for analyse.

Brug i laboratoriet

Kulturerundersøgelse for *T. vaginalis*: Inkuber reagensglasset ved 35±2°C i 2-7 dage, og observer fra anden dag den typiske morfologi under mikroskopet.

Kulturerundersøgelse for gær: Prøven kan direkte podes og/eller efter reagensglasinkubation ved 35±2°C i 24 timer på et egnet dyrkningsmedie plade (dvs. en SDA-plade) ved hjælp af:

- Automatisk podning
- Direkte podning med swab

KVALITETSKONTROL OG PRÆSTATIONSCHARAKTERISTIK

Procedurerne for kvalitetskontrol omfatter kontrol af systemets præstation ved hjælp af rene, mikrobielle suspensioner af ATCC®-stammer af de to mikrobiologiske målgænsere, *Trichomonas vaginalis* og *Candida albicans*, og kontrol af den hæmmende kapacitet ved hjælp af *Escherichia coli*.

Anvendt fremgangsmåde:

Væksttest med *C. albicans*

1. Ved hjælp af en ren kultur af en ATCC®-stamme fremstille en 0,5 MCF suspension svarende til 1,5x10⁸ CFU/ml.
2. Forbered en fortynding fra 0,5 MCF bakteriesuspension, der kan give et kimalt på 30-300 CFU i 100 µl.
3. Hent 200 µl medium fra den således fremstillede fortynding, og pod CAT BOUILLON-mediet.
4. Luk systemet, og vortex i 10 sekunder ved 2000/2500 rpm.
5. Pod 100 µl på tidspunkt nul (umiddelbart) på en passende plade med dyrkningsmedium (dvs. SDA-plade).
6. Inkubér nul-tids-reagensglasset og pladerne ved 35 ±2°C i 24 timer.
7. Efter 24 timers inkubation tages CAT BOUILLON-enheden ud af inkubatoren.
8. Pod pladen (dvs. SDA-pladen) med 100 µl under anvendelse af en mikropipette og en spredér.
9. Inkuber pladerne i yderligere 24 timer ved 35 ±2°C.

Inhibitionstest med *E. coli*

1. Ved hjælp af en ren kultur af en ATCC®-stamme fremstille en 0,5 MCF suspension svarende til 1,5x10⁸ CFU/ml.
2. Forbered en fortynding fra 0,5 MCF bakteriesuspension, der kan give en halvt sammenflydende vækst, efter pladen er blevet podet med 100 µl (0,5 suspension opløst 1:100).
3. Hent 200 µl medium fra den således fremstillede fortynding, og pod CAT BOUILLON-mediet.
4. Luk systemet, og vortex i 10 sekunder ved 2000/2500 rpm.
5. Pod 100 µl på tidspunkt nul (umiddelbart) på en passende plade med dyrkningsmedium (dvs. SDA-plade).
6. Inkubér nul-tids-reagensglasset og pladerne ved 35 ±2°C i 24 timer.
7. Efter 24 timers inkubation tages CAT BOUILLON-enheden ud af inkubatoren.
8. Pod pladen (dvs. SDA-pladen) med 100 µl under anvendelse af en mikropipette og en spredér.
9. Inkuber pladerne i yderligere 24 timer ved 35 ±2°C.

Væksttest med *T. vaginalis*

1. Læg kuglen i et vandbad, indtil det frosne materiale er helt dækket, ved $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ i 2-3 minutter, indtil den er helt optøet.
2. Umiddelbart efter optøning, overføres stammen aseptisk til et reagensglas med 13 ml af rekonstitueret bouillon 2154, der får en pH-værdi på 6,0 ved tilsætning af 150 μl 1 N HCl. Inkubér reagensglasset ved $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ i en skrå stilling på 15° .
3. Bestemme kulturens maks. tæthed empirisk ved mikroskopisk undersøgelse, og evaluér antallet af levende organismer (normalt 3-4 dage).
4. Når maks. tætheden er nået, placeres reagensglasset i is i 10 minutter. Vend forsigtigt reagensglasset på hovedet 10 gange, overfør 200 μl af suspensionen aseptisk til et reagensglas med CAT BOUILLON og gennemfør straks gøre en nul-tidsoptælling ved hjælp af endnu en mikroskopisk undersøgelse.
5. Inkubér reagensglasset ved 35°C i 72 timer.
6. Tag 100 μl efter 72 timer, og kontroller for tilstedeværelsen/antal protozoer ved hjælp af en ny mikroskopisk undersøgelse.

RESULTATER

ATCC®-stamme	Gennemsnit af CFU'er genvundet ved tid 0 t.	Gennemsnit af CFU'er genvundet ved tid 24 t.
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Sammenflydende vækst
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Halvt sammenflydende vækst	Inhibition (fra partiel til total)

ATCC®-stamme	Gennemsnitstal ved 0 t. i 100 μl	Gennemsnitstal ved 72 t. i 100 μl
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	>155

Resultaterne af forsøgene blev opnået med ATCC®-stammer i laboratoriet. Resultaterne er udtrykt som middel opnået fra tre reagensglas ved 24 timer for *C. albicans* og *E. coli*, og ved 72 timer for *T. vaginalis*.

De opnåede resultater afhænger stort set af passende og tilstrækkelig indsamling af prøven, samt hurtigt transport og laboratorieanalyse.

Norsk

CAT BULJONG

Pakningsvedlegg og brugerhåndbok

Se ordliste med symboler på slutten av pakningsvedlegget.

TILTENKT BRUK

CAT BULJONG er en enhet for bevaring og dyrking av *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* og andre gjær-sopper tilstede i urogenitale prøver.

SAMMENDRAG OG PRINSIPPER

Blant de patogener som er ansvarlige for smittsom genital sykdom, de som bestemmer utbruddet av vaginit, er i hovedsak bakterier, sopp og protozoer. Mykotisk vaginit er en av de hyppigste genitale infeksjoner forårsaket av *Candida albicans* i omtrent 70–80% av tilfellene og av ikke-albicansarter for de resterende 20–30%. En økning av gjær-soppmengden – som normalt er tilstede i vagina, selv om man er frisk – på grunn av mikrobiologiske og/eller fysiologiske faktorer øker sannsynligheten for å pådra seg infeksjonssymptomer, særlig når pseudohyphae, den mest virulente formen, manifesterer seg. *Trichomonas vaginalis*, en seksuelt overført flagell-protozo, er årsaken til infeksjon i urinveiene, noe som kan være asymptomatisk, men kan også manifestere seg med karakteristiske symptomer og strekke seg til livmoren og egglederne, til tider forårsake alvorlig bekkeninfeksjon og gi økt risiko for prematur fødsel hos gravide kvinner. Symptomene er mindre tydelige hos menn, men kan føre til urinrørsbetennelse og prostatitt. I ethvert tilfelle ser det ut til at det øker mottakeligheten overfor HIV. Den vanligste og raskeste metoden som brukes for å diagnostisere trichomoniasis er direkte mikroskopisk undersøkelse av vaginal sekresjon, mens den mest følsomme teknikken er undersøkelse av prøvekultur fra vagina og urinrør. Det å bruke et kulturmedium som gjør det mulig å bevare og dyrke *Trichomonas* og *Candida* er et nyttig verktøy for mikrobiologisk, diagnostisk undersøkelse for å studere uretrovaginale infeksjoner for å fastslå den mikrobielle etiologien av sykdommen.

Proteinbasen som utgjør mediet gir kilden til karbon og amin-nitrogen tilsatt hesteserum som vekstsupplement og gjær-ekstrakt som kilde til vitamin B-komplekset. Mediet inneholder et bredspektrert antibiotikasupplement (kloramfenikol) som inhiberende middel for samtidig flora med en inhiberende virkning mot gramnegative og grampositive bakterier, mens nærværet av reduksjonsmidler favoriserer de anaerobe vekstbetingelsene.

REAGENSER

CAT BULJONG - medium sammensetning

Bukspyttkjertelfordøyelse av kasein
Gjær-ekstrakt

Glukose
Natriumklorid
L-cystein
Natriumfosfat
Hesteserum
Kloramfenikol

ADVARSLER

1. CAT BULJONG er en enhet for in vitro-diagnostisk og engangs bruk.
2. Følg de godkjente forsiktighetsreglene for potensielt farlige biologiske materialer og aseptiske teknikker.
3. Denne enheten skal kun brukes av tilstrekkelig opplært og kvalifisert personell. Produsenten fraskriver seg ethvert ansvar for bruken av ukvalifiserte eller uautoriserte personer.
4. De kliniske prøvene kan inneholde sykdomsfremkallende mikroorganismer, inkludert hepatitt eller humant immunsviktvirus. Hånder alle materialer og gjenstander forurenset med blod og andre biologiske væsker i samsvar med retningslinjer og "standard forholdsregler" diktet av de institusjonelle organer.
5. Alle prøver og materialer som brukes for produktanalyse er å bli betraktet som potensielt infiserte, og må derfor behandles som for å forhindre smitte av laboratoriepersonell. Steriliser alt potensielt farlig avfall inkludert prøver, beholdere og kulturmedier etter bruk.
6. Følg bruksanvisningen nøye.
7. Enheten er ikke egnet for transport av mikroorganismer som ikke inngår i den tiltenkte bruken.
8. Kulturmediet må ikke svelges.
9. Du skal ikke bruke dyrkningsmediet for forhåndsfukning av vattipinnen før innsamling av prøven eller for skylling eller fukning av prøvetakingssteder.
10. Produktet kan ikke gjenbrukes; gjenbruk kan føre til feil diagnose.
11. Enheten skal ikke brukes ved åpenbare tegn på skade.
12. Unngå hudkontakt med kulturmediet.
13. Hvis prøven ble tatt og transporteres ved hjelp av vanlige prøvetakings- og transportsystemer og skal behandles med automatiske dyrkningssystemer, må du fjerne vattipinnen fra prøverøret inneholdende berikelsesmediet før behandling.
14. Se bruksanvisningen. Den korrekte versjonen er den som følger med enheten eller som er tilgjengelig i elektronisk format og som identifiseres av e-IFU-indikatoren på emballasjeetiketten.

OPPBEVARING

CAT-BULJONGEN er klar til bruk og krever ingen videre bearbeiding. Den må oppbevares i sin opprinnelige pakke ved temperaturer mellom 5 og 25°C frem til brukstidspunktet. Skal ikke overopphetes. Skal ikke inkuberes eller fryses før bruk; upassende oppbevaring kan gi et tap av effektivitet. Skal ikke brukes etter utløpsdatoen som er trykt på den eksterne pakken og på etiketten av testrøret med kulturmediet.

PRODUKTFORRINGELSE

CAT-BULJONGEN skal ikke brukes hvis den viser synlige tegn på skade eller forurensning, lekkasje eller andre tegn på forringelse.

MEDFØLGENDE MATERIALER

Kode	Beskrivelse	Tilgjengelighet	Bruk i automasjon
094CE.A	12 x 80 mm testrør med konisk bunn og skrukork inneholdende 2 ml CAT BULJONGMEDIUM	1 boks med 300 stk. (6 x 50 enheter)	Ja
094CE	12 x 80 mm testrør med konisk bunn og skrukork inneholdende 2 ml CAT BULJONGMEDIUM	1 boks med 300 stk. (6 x 50 enheter)	Nei
092CN	16 x 100 mm testrør med konisk bunn og skrukork inneholdende 4 ml CAT BULJONGMEDIUM og nylonfiberbelagt vattipinne med bruddpunkt i en pose.	1 boks med 300 stk. (6 x 50 enheter)	Ja

NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDFØLGENDE, MATERIALER

Reserve dyrkningsplater, reagenser, organismer for kvalitetskontroll, ulike laboratorieinstrumenter, vanlig nylonfiberbelagt vattipinne med forhåndsformet bruddpunkt ved 80 mm (502CS01), nylonfiberbelagt vattipinne med minispiss og forhåndsformet bruddpunkt ved 80 mm (501CS01).

OBS: Hvis vattipinnen blir behandlet med automatiske utstrykningssystemer for kulturprøver, er den vanlige nylonfiberbelagte vattipinnen med forhåndsformet bruddpunkt på 80 mm (502CS01) godkjent til bruk. Enhver annen type vattipinne – inkludert den nylonfiberbelagte vattipinnen med minispiss (kode 501CS01) – må fjernes fra røret før du laster prøven på det automatiske systemet.

BRUKSANVISNING

Prøvetaking

Prøvene som skal analyseres for å søke etter *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* og andre gjærsoyper kan foreligge i forskjellige former: vaginal sekresjon, prostatisk sekresjon, uretral sekresjon.

- Løsne korken på testrøret med dyrkningsmediet.
- Samle inn prøven.
- Åpne testrøret og sett inn vattipinnen umiddelbart.
- Bryt vattipinneskaftet inne i testrøret ved det indikerte bruddpunktet.
- Sett tilbake korken og skru den fast.
- Identifiser testrøret med pasientens data og send prøven til laboratoriet for analyse.

Bruk i laboratoriet

Kulturrundersøkelse for *T. vaginalis*: inkuber testrøret ved 35±2°C i 2–7 dager, og start fra den andre dagen der du observerer den typiske morfologien under mikroskopet.

Kulturrundersøkelse for gjærsopp: prøven kan dyrkes direkte og/eller etter inkubering av testrøret ved 35±2°C i 24 timer på en egnet kulturmediumplate (dvs. SDA-plate) ved hjelp av:

- Automatisk utstrykning
- Direkte dyrkning med vattpinne

KVALITETSKONTROLL OG YTELSESEGNSKAPER

Kvalitetskontrollprosedyrene inkluderer kontroll av systemtelsen ved hjelp av rene bakteriesuspensjoner av ATCC®-stammer av de to mål-mikrobiologiske midlene, *Trichomonas vaginalis* og *Candida albicans*, og kontrollere den inhiberende kapasiteten ved hjelp av *Escherichia coli*.

Benyttede prosedyrer:

Veksttest med *C. albicans*

1. Fra en ren kultur av en ATCC®-stamme, klargjør en 0,5 McF-suspensjon som tilsvarer 1,5 x 10⁸ CFU/ml.
2. Klargjør en fortyning fra den bakterielle 0,5 McF-suspensjonen som er i stand til å gi en platetelling på 30–300 CFU i 100 µl.
3. Hent 200 µl av mediet fra den klargjorte fortyningen og inokuler CAT-BULJONGMEDIET.
4. Lukk systemet og sentrifuger i 10 sekunder ved 2000/2500 OPM.
5. Stryk ut 100 µl ved null-tid (umiddelbart) på en passende kulturmediumplate (dvs. SDA-plater).
6. Inkuber de null-tids testrørene og platene ved 35±2°C i 24 timer.
7. Etter 24 timers inkubasjon, hent CAT BULJONG-enheten fra inkubatoren.
8. Dyrk platen (dvs. SDA-platen) med 100 µl ved bruk av en mikropipette og en spreader.
9. Inkuber platene i ytterligere 24 timer ved 35±2°C.

Inhiberingstest med *E. coli*

1. Fra en ren kultur av en ATCC®-stamme, klargjør en 0,5 McF-suspensjon som tilsvarer 1,5 x 10⁸ CFU/ml.
2. Klargjør en fortyning fra den bakterielle 0,5 McF-suspensjonen som kan gi en semikonfluent vekst etter dyrkning av platen med 100 µl (0,5 suspensjon fortynt 1:100).
3. Hent 200 µl av mediet fra den klargjorte fortyningen og inokuler CAT-BULJONGMEDIET.
4. Lukk systemet og sentrifuger i 10 sekunder ved 2000/2500 OPM.
5. Stryk ut 100 µl ved null-tid (umiddelbart) på en passende kulturmediumplate (dvs. SDA-plater).
6. Inkuber de null-tids testrørene og platene ved 35±2°C i 24 timer.
7. Etter 24 timers inkubasjon, hent CAT BULJONG-enheten fra inkubatoren.
8. Dyrk platen (dvs. SDA-platen) med 100 µl ved bruk av en mikropipette og en spreader.
9. Inkuber platene i ytterligere 24 timer ved 35±2°C.

Veksttest med *T. vaginalis*

1. Senk pæren ned i mariabadet. Det frosne materialet skal være fullstendig dekket av væsken og la det forbli nedsenket ved 35±2°C i 2–3 minutter til det er fullstendig tinet.
2. Umiddelbart etter tining, overfør stammen med aseptisk teknikk til et testrør inneholdende 13 ml av rekonstituert buljong 2154 som er klargjort med en pH pålydende 6,0 ved tilsetning av 150 µl 1N HCl. Inkuber reagensrøret ved 35±2°C i en 15° skråstilling.
3. Bestem kulturens tetthetstopp empirisk ved mikroskopisk inspeksjon der du evaluerer antallet vitale organismer (vanligvis 3–4 dager).
4. Når tetthetstoppen er nådd, plasser testrøret på is og la stå i ti minutter. Vend testrøret forsiktig opp-ned ti ganger og overfør 200 µl av suspensjonen med aseptisk teknikk til et testrør med CAT BULJONG og umiddelbart foreta en null-tids telling med fersk mikroskopisk undersøkelse.
5. Inkuber testrøret ved 35°C i 72 timer.
6. Etter 72 timer, hent 100 µl og kontroller om tilstedeværelse (evt. registrer antallet) av protozoer med fersk mikroskopisk undersøkelse.

RESULTATER

ATCC®-stamme	Gjennomsnittet av CFU-er utvunnet ved 0 timer	Gjennomsnittet av CFU-er utvunnet ved 24 timer
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Konfluent vekst
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Semikonfluent vekst	Inhibering (fra delvis til total)

ATCC®-stamme	Gjennomsnittlig telling ved 0 timer i 100 µl	Gjennomsnittlig telling ved 72 timer i 100 µl
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	> 155

Resultatene av testene ble oppnådd med ATCC®-stammer i laboratoriet. Resultatene er uttrykt som gjennomsnitt oppnådd fra tre testrør ved 24 timer for *C. albicans* og *E. coli*, og ved 72 timer for *T. vaginalis*.

De oppnådde resultatene er i stor grad avhengige av hensiktsmessig og tilfredsstillende innsamling av prøven, så vel som rask transport og laboratorieanalyse.

CAT-BULJONG**Bipacksedel och bruksanvisning**

Se symbolförteckningen i slutet av bipacksedeln.

AVSEDD ANVÄNDNING

CAT-buljong är en produkt för konservering och odling av *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* samt andra jästsvampar i urogenitala prov.

SAMMANFATTNING OCH PRINCIPER

Bland patogener ansvariga för smittsamma urogenitala sjukdom, är sådana som orsakar vaginit huvudsakligen bakterier, svampar och protozoer. Mykotisk vaginit (svampvaginit) är en av de vanligaste genitala infektionerna; i de flesta fallen (cirka 70-80%) orsakas den av *Candida albicans* men även andra arter av candida kan förekomma (20-30%). En ökning av jästbelastningen (som i liten mängd är normalt närvarande i slidan) orsakad av mikrobiologiska och/eller fysiologiska faktorer, ökar möjligheten till infektionssymtom, särskilt om det bildas pseudohyfer, som är dess mest virulenta form. *Trichomonas vaginalis*, en sexuellt överförbar flagellat, orsakar infektion i det urogenitala området och kan vara asymtomatisk eller manifesteras sig genom typiska symtom; risken finns att infektionen breder ut sig till livmodern och äggledarna och i vissa fall kan detta orsaka allvarlig bäckeninfektion. Hos gravida kvinnor kan infektionen leda till för tidig födsel. Symtomen är mindre uppenbara hos män men kan orsaka uretrit och prostatit. I varje fall, verkar infektionen öka mottagligheten för HIV. Den mest vanliga och snabbaste metoden som används för att diagnostisera trikomonasinfektion är direkt mikroskopisk undersökning av vaginalsekret; den mest känsliga diagnostiska tekniken är däremot undersökning av odlingar från vaginalprov och uretraprov. Odlingsmedium som gör att *Trichomonas* och *Candida* kan förvaras och tillväxas är ett användbart verktyg för mikrobiologisk diagnosundersökning för att studera uretrovaginala infektioner och fastställa sjukdomens mikrobiella etiologi.

Mediets proteinbas är en källa av kol och aminosyror; till detta tillsätts hästserum som tillväxttillskott och jästextrakt som källa för B-komplexets vitaminer. Som hämmare av samtidig flora innehåller mediet tillskott av antibiotika med brett spektrum (kloramfenikol) med hämmande aktion mot gram-negativa och gram-positiva bakterier; innehållet av reduktionsmedel främjar anaeroba tillväxtförhållanden.

REAGENSER**CAT-buljong mediets sammansättning**

Kaseinpepton
Jästextrakt
Glukos
Natriumklorid
L-cystein
Natriumtioglykolat
Hästserum
Kloramfenikol

VARNINGAR

1. CAT-buljong är en engångsprodukt för in vitro-diagnostisk användning.
2. Vidta godkända försiktighetsåtgärder för potentiellt biologiskt farligt material och använd godkänd aseptiska tekniker.
3. Produkten får endast användas av vederbörligen utbildad och behörig personal. Tillverkaren fransäger allt ansvar om produkten används av okvalificerad eller obehörig personal.
4. Kliniska prover kan innehålla patogena mikroorganismer, bl.a. hepatit-virus och humant immunbristvirus. Hantera alla material och föremål som kontaminerats med blod eller annan biologisk vätska i enlighet med riktlinjer och "standard försiktighetsåtgärder" som fastställts av gällande myndigheter.
5. Alla prover och material som används för produktanalys ska betraktas som potentiellt smittsamma och måste därför hanteras på ett sätt som förhindrar infektion hos laboratoriepersonalen. Sterilisera allt biologiskt farligt avfall inklusive prover, behållare, transport- och odlingsmedier efter användning.
6. Följ anvisningarna noga.
7. Produkten är inte avsedd för transport av mikroorganismer som inte anges i avsnittet Avsedd användning.
8. Förtär inte odlingsmediet.
9. Använd inte odlingsmediet för att förfukta bomullsspinnen före insamling av provet eller för att skölja eller fukta provtagningsställena.
10. Produkten är avsedd endast för engångsbruk. Återanvändning kan ge upphov till felaktig diagnos.
11. Använd inte produkten om det finns synliga tecken på skada.
12. Undvik hudkontakt med odlingsmediet.
13. Om provet tas och transporteras med vanliga provtagnings- och transportsystem och ska bearbetas med automatiserade system, avlägsna bomullsspinnen från provröret som innehåller anrikningsmediet före bearbetningen.
14. Kontrollera att du har rätt version av bruksanvisningen. Rätt version följer med utrustningen eller finns tillgänglig i elektronisk form via IFU-koden på förpackningen.

FÖRVARING

CAT-buljong är bruksfärdig och ingen ytterligare beredning krävs. Produkten måste förvaras i originalförpackningen vid temperaturer mellan 5°C och 25°C fram till användning. Får inte värmas upp för mycket. Får inte inkuberas eller frysas före användning. Olämplig förvaring medför försämrad effektivitet. Får inte användas efter utgångsdatumet som är tryckt på den yttre förpackningen och etiketten på odlingsmediets provrör.

FÖRSÄMRING AV PRODUKTEN

Använd inte CAT-buljongen om det finns synliga tecken på skada, kontaminering, läckage eller andra tecken på försämring.

MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS

Kod	Beskrivning	Tillgänglighet	Användning i automatiserat system
094CE.A	12x80mm provrör med skruvlock och koniskt botten innehållandes 2 ml CAT-buljong medium	1 kartong med 300 st (6x50 enheter)	Ja
094CE	12x80mm provrör med skruvlock och koniskt botten innehållandes 2 ml CAT-buljong medium	1 kartong med 300 st (6x50 enheter)	Nej
092CN	16x100mm provrör med skruvlock och koniskt botten innehållandes 4 ml CAT BROTH medium och fiberpinne med brytskåra i en påse.	1 kartong med 300 st (6x50 enheter)	Ja

MATERIAL SOM KRÄVS MEN SOM INTE TILLHANDAHÅLLS

Extra odlingsplattor, reagenser, kvalitetskontrollorganismer, diverse laboratorieinstrument, Regular flockad provsamlingspinne med brytskåra vid 80 mm (502CS01), Minitip flockad provsamlingspinne med brytskåra vid 80 mm (501CS01).

NB: Om provtagningspinnen bearbetas med automatiserade plattodlingssystem, är Regular flockad provsamlingspinne med brytskåra vid 80 mm (502CS01) validerad för denna användning. Andra typer av provtagningspinne – även Minitip flockad provsamlingspinne (kod 501CS01) – måste avlägsnas från röret innan provet positioneras i det automatiserade systemet.

BRUKSANVISNING
Provinsamling

Proverna som analyseras för att söka efter *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* och andra jästsvampar kan vara olika: vaginalsekret, prostatasekret, uretrasekret.

- Lossa locket på provröret som innehåller odlingsmediet.
- Samla in provet.
- Öppna provröret och sätt genast in provpinne.
- Bryt provsamlingspinnens övre del i provröret vid angiven brytpunkt.
- Skruva tillbaka locket ordentligt.
- Märk röret med patientens data och skicka provet till laboratoriet för analys.

Användning i laboratoriet

Undersökning av odling för *T. vaginalis*: inkubera provröret vid 35±2°C i 2-7 dagar och observera den typiska morfologin med mikroskop från och med dag 2.

Undersökning av odling för jästsvampar: provet kan ympas direkt och/eller efter provrörets inkubation vid 35±2°C i 24 timmar på lämplig odlingsmediumplatta (SDA-platta) genom:

- Automatiserad plattodling
- Direkt odling med provtagningspinne

KVALITETSKONTROLL OCH PRESTANDAEGENSKAPER

Kvalitetskontrollprocedurerna inkluderar en kontroll av systemets prestanda med hjälp av ren mikrobiell suspension av ATCC[®] stammar från de två gällande mikrobiologiska medlen *Trichomonas vaginalis* och *Candida albicans*, samt en kontroll av hämningskapaciteten med *Escherichia coli*.
Förfaranden:

Kontroll av tillväxt med *C. albicans*

1. Från ren odling av en ATCC[®] stam, förbered en 0,5 McF suspension som motsvarar 1,5x10⁸ CFU/ml.
2. Bered en spädning från 0,5 McF bakteriell suspension så att den innehåller 30-300 CFU/100 µl.
3. Hämta 200 µl av medium från beredd spädning och inokulera CAT-buljong mediet.
4. Stäng systemet och vortexa i 10 sekunder vid 2 000/2 500 varv/min.
5. Plattodla 100 µl vid tiden noll (omgående) på lämplig odlingsmediumplatta (SDA-platta).
6. Inkubera nolltid-provröret och plattorna vid 35 ±2°C i 24 timmar.
7. Efter 24 timmars inkubation, hämta CAT-BROTH produkten från inkubatorn.
8. Odlä på plattan (SDA-platta) 100 µl med en mikropipett och en spridare.
9. Inkubera plattorna ytterligare 24 timmar vid 35 ±2°C.

Inhibitionstest *E. coli*

1. Från ren odling av en ATCC[®] stam, förbered en 0,5 McF suspension som motsvarar 1,5x10⁸ CFU/ml.
2. Bered en spädning från 0,5 McF bakteriell suspension så att den ger en halvkonfluent tillväxt efter odling på platta med 100 µl (0,5 suspension med spädning 1:100).
3. Hämta 200 µl av medium från beredd spädning och inokulera CAT-buljong mediet.
4. Stäng systemet och vortexa i 10 sekunder vid 2 000/2 500 varv/min.
5. Plattodla 100 µl vid tiden noll (omgående) på lämplig odlingsmediumplatta (SDA-platta).
6. Inkubera nolltid-provröret och plattorna vid 35±2°C i 24 timmar.
7. Efter 24 timmars inkubation, hämta CAT-broth produkten från inkubatorn.
8. Odlä på plattan (SDA-platta) 100 µl med en mikropipett och en spridare.
9. Inkubera plattorna ytterligare 24 timmar vid 35±2°C.

Kontroll av tillväxt med *T. vaginalis*

1. Doppa ampullen i ett vattenbad på 35±2°C så att det frusna materialet är helt täckt; vänta 2-3 minuter, tills materialet är helt upptinat.
2. Omedelbart efter upptiningen, överför stammen aseptiskt i ett provrör med 13ml beredd buljong 2154 som förts upp till pH 6.0 genom tillsats av 150 µl av 1N HCl. Inkubera provröret vid 35±2°C och luta det 15°.

3. Grundad på erfarenheten, fastställ odlingens densitetsmaximum genom en mikroskopkontroll som värderar antalet vitala organismer (i vanliga fall 3-4 dagar).
4. När densitetsmaximum har nåtts, lägg provröret i isbad för cirka 10 minuter. Vänd provröret försiktigt upp-och-ned 10 gånger och överför aseptiskt 200 µl suspension till ett provrör med CAT-buljong; utför omgående en beräkning vid tiden noll med hjälp av ny mikroskopisk undersökning.
5. Inkubera provröret vid 35°C i 72 timmar.
6. Efter 72 timmar, hämta 100 µl och verifiera närvaron/antalet prozoer genom ny mikroskopisk undersökning.

RESULTAT

ATCC® stam	Genomsnittligt antal CFU vid tid 0	Genomsnittligt antal CFU efter 24 timmar
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Konfluent tillväxt
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Halvkonfluent tillväxt	Hämning (partiell till total)

ATCC® stam	Genomsnittligt antal vid tidpunkt 0 i 100 µl	Genomsnittligt antal efter 72 timmar i 100µl
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	> 155

Resultaten kommer från laboratorieprov med ATCC® stammar. Resultaten uttrycks som medelvärdet från tre olika provrör som kontrollerats efter 24 timmar för *C. albicans* och *E. coli*, och efter 72 timmar för *T. vaginalis*.

Upnådda resultat beror på tillräcklig och lämplig provinsamling liksom på snabb transport och laboratorieanalys.

Türkçe**CAT BROTH****Kullanma Talimatı ve Kullanıcı Kılavuzu**

Kullanma talimatının sonundaki sembol sözlüğüne bakınız

KULLANIM AMACI

CAT BROTH, *Trikomonas vaginalis*, *Candida albicans* ve ürogenital numunelerde mevcut olan diğer mayaların bakımı ve kültürü için kullanılan bir cihazdır.

ÖZET VE PRENSİPLER

Genital enfeksiyöz patolojiden sorumlu patojenler arasında, vajinit başlangıcını belirleyen patojenler aslında bakteri, mantar veya protozoanlardır. Mikotik vajinit en sık görülen genital enfeksiyonlardan biridir, vakaların yaklaşık olarak %70-80'inden *Candida albicans* sorumludur ve geri kalan %20-30'undan diğer non-albicans türleri sorumludur. Mikrobiyolojik ve/veya fizyolojik faktörlere bağlı olarak, refah şartlarında bile genellikle vajinal seviyede mevcut olan maya yükünün artması, öldürücü şekli temsil eden psödoherf ortaya çıktığında enfeksiyon semptomlarının oluşma olasılığını artırmaktadır. *Trikomonas vaginalis*, cinsel yolla bulaşan flagellalı bir protozoandır, asemptomatik de olabilen ancak karakteristik semptomatolojiyle de kendini gösterebilen ve ciddi bir pelvik enfeksiyona neden olarak uterusu ve tüplere uzanabilen, bir genitoüriner sistem enfeksiyonunun nedenidir ve gebelikte artan erken doğum riskine maruz bırakır. Erkeklerde semptomlar daha az belirgindir ancak üretrit ve prostatite neden olabilir. Her durumda, HIV'e duyarlılığın arttığı görünür. Vajinal ve üretral numune kültürleri en hassas teknik iken, trikomoniyazı teşhis etmek için kullanılan en yaygın ve hızlı yöntem vajinal sekresyonun doğrudan mikroskopik incelemesidir.

Trikomonas ve *Candida*'nın bakımını ve büyümesini sağlayan bir ortamın kullanılması, patolojinin mikrobiyal etiolojisini değerlendirmeye yönelik üretero-vajinal enfeksiyonların çalışmasında mikrobiyolojik tanı araştırması için yararlı bir araçtır.

Ortamı oluşturan protein tabanı, karbon ve amino azot kaynağı temin eder ve bir büyüme takviyesi olan at serumu ve B kompleksi vitaminleri kaynağı olarak maya özütü eklenir. İndirgenlerin varlığı anaerobinin büyüme koşullarını desteklerken, ortam eşlik eden flora için inhibitör madde olarak gram negatif ve pozitif bakterilere karşı inhibitör etkiye sahip, geniş spektrumlu bir antibiyotik takviyesi olan kloramfenikol içerir.

REAKTİFLER**CAT BROTH ortam bileşimi**

Kazeinin pankreas dijestesi
Maya Özütü
Glukoz
Sodyum Klorür

L-Sistein
Sodyum Tiyoğlikolat
At Serumu
Kloramfenikol

KULLANIM

1. CAT BROTH, in vitro tanı amaçlı kullanıma yönelik tek kullanımlık bir cihazdır.
2. Potansiyel olarak tehlikeli biyolojik materyallere ve aseptik tekniklere ilişkin onaylanan tedbirlere riayet edin.
3. Kullanım, doğru eğitim almış ve kalifiye personelle sınırlandırılmalıdır. Üretici firma, vasıfsız veya yetkili olmayan kişilerin kullanımından doğan tüm sorumluluğu reddeder.
4. Klinik numuneler, Hepatit veya insan immünyetmezlik virüsleri de dahil olmak üzere patojen mikroorganizmaları içerebilir. Kan ve diğer biyolojik sıvılarla kontamine olan tüm materyalleri ve ürünleri, kurumsal organlar tarafından belirlenen "standart tedbirler" ve kılavuzlara uygun olarak kullanın.
5. Ürünün analizi için kullanılan tüm numuneler ve materyaller, potansiyel olarak enfekte kabul edilir ve dolayısıyla, laboratuvar personeli tarafından enfeksiyon riskini engelleyecek şekilde yönetilmelidir. Kullanımdan sonra, numuneler, kaplar ve taşıma ve kültür ortamları da dahil olmak üzere potansiyel olarak tehlikeli tüm atıkları sterilize edin.
6. Talimatlara kesinlikle riayet edin.
7. Kullanım amacıyla dahil olmayan mikroorganizmaların taşınması için uygun değildir.
8. Ortamı yutmayın.
9. Ortamı, numune toplama işleminden önce tamponu nemlendirmek veya numune alma bölgelerini yıkamak veya durulamak için kullanmayın.
10. Ürün tekrar kullanılamaz, tekrar kullanılması yanlış tanıya neden olabilir.
11. Açıkça görülen hasar bulguları varsa kullanmayın
12. Cildin ortalama temasından kaçının
13. Numunenin alınması ve taşınması, yaygın alma ve taşıma sistemleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve numunenin otomatik kaplama sistemleri ile işlenmesi istenmişse, numunenin otomasyonla işlenmesinden önce, zenginleştirme ortamını içeren tüpten tamponu çıkarmak gerekir.
14. Kullanım talimatlarının versiyonunu kontrol ediniz. Cihaz ile tedarik edilen veya elektronik şekilde ve ambalaj etiketinde e-IFU kodu ile tespit edilen kullanım talimatları doğrudur.

SAKLAMA

CAT BROTH kullanıma hazırdır ve başka hiçbir hazırlık gerektirmemektedir. Kullanılana kadar orijinal ambalajında 5 - 25°C'de saklanmalıdır. Aşırı ısıtmayın. Kullanımdan önce enkübe etmeyin veya dondurmayın, uygun olmayan bir saklama etkinlik kaybına neden olur. Dış kutu üzerinde ve ortam tüpü etiketinin üzerinde belirtilen son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

ÜRÜNÜN HASAR GÖRMESİ

Üründe gözle görülür hasar veya kontaminasyon, sızıntı bulgusu veya başka bozulma bulguları varsa, CAT BROTH'u kullanmayın.

İÇİNDE BULUNAN MATERYAL

Kod	Açıklama	Kullanılabilirlik	Otomasyonda kullanım
094CE.A	2 ml CAT Broth ortamı içeren, vidalı tapaya sahip 12x80mm konik tabanlı tüp	300 parçalı 1 kutu (6X50 ünite)	Evet
094CE	2 ml CAT Broth ortamı içeren, vidalı tapaya sahip 12x80mm konik tabanlı tüp	300 parçalı 1 kutu (6X50 ünite)	Hayır
092CN	4 ml CAT broth ortamı içeren, vidalı tapaya sahip 16x100 mm konik tabanlı tüp ve torbada kırma noktası ile sarılmış lif tampon.	300 parçalı 1 kutu (6X50 ünite)	Evet

GEREKİLİ OLAN ANCAK DAHİL OLMAYAN MATERYALLER

Yardımcı kültür plakları, reaktifler, kalite kontrol organizmaları, çeşitli laboratuvar araçları ve 80 mm'de basılı kırma noktasına sahip Regular Pamuklu Tampon (502CS01), 80 mm'de basılı kırma noktasına sahip Minitip Pamuklu Tampon (501CS01)

NOT Tamponun numunelerin kültür için kaplanması amacıyla otomasyonla işlenmesi durumunda, kullanım için valide edilen çubuk 80 mm'de basılı kırma noktasına sahip Regular Pamuklu Tampondur (502CS01). Minitip Pamuklu kod 501CS01 dahil - herhangi bir başka tip çubuğun, otomasyon üzerine numune yüklenmeden önce tüpten kaldırılması gerekecektir.

KULLANIM TALİMATLARI

Numune toplama

Trikomonas vaginalis, *Candida albicans* ve mayaların araştırılması için analiz edilecek numuneler, farklı formatlarda olabilir: vajinal eksüda, prostatik sekresyon, üretral sekresyon.

- Kültür ortamı içeren tüpün tapasını gevşetin.
- Numune alımına devam edin.
- Tüpü açın ve çubuğu hemen takın.
- Belirtilen kırma noktasındaki tüpün içine çubuğu kırın.
- Tapayı sıkıca vidalayın.
- Tüpü hastaya ilişkin verilerle tanımlayın ve numuneyi analiz için laboratuvara gönderin.

Laboratuvarında kullanım

T. vaginalis için kültür incelenmesi: Tüpün enkübasyonunu 2-7 gün boyunca 35±2°C'de gerçekleştirin ve ikinci günden itibaren, tipik morfolojinin mikroskopik incelenmesini yerine getirin.

Mayalar için kültür incelenmesi: numuneyi doğrudan ekme ve/veya tüpün 24 saat boyunca 35±2°C'de enkübasyonundan sonra, aşağıdaki yöntemleri kullanarak plaktaki (örn. SDA plağı) uygun kültür ortamı üzerine ekme mümkündür:

- Otomatik kaplama;
- Tamponla doğrudan ekme.

KALİTE KONTROLÜ VE PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Kalite kontrol prosedürleri, iki hedef mikrobiyolojik ajan olan *Trikomonas vaginalis* ve *Candida albicans*'ın ATCC® suşlarının saf mikrobiyal süspansiyonlarını kullanarak sistem performansının kontrolünü ve *Escherichia coli*'yi kullanarak inhibitör kapasitenin kontrolünü içerir. Uygulanan prosedürler:

C. albicans ile büyüme kontrolü

1. Bir ATCC® suşunun saf kültüründen $1,5 \times 10^8$ ufc/ml'ye karşılık gelen bir 0.5 McF hazırlayın
2. 100 µl'de 30-300 UFC'ye eşit bir plak sayımı verebilen, 0.5McF bakteri süspansiyonundan bir dilüsyon hazırlayın
3. Bu şekilde hazırlanan dilüsyondan 200 µl ortamı geri alın ve CAT broth ortamını inoküle edin
4. Sistemi kapatın ve tüpe 2000/2500 RPM'de 10 saniye vorteks uygulayın
5. Uygun plaktaki kültür ortamı (örn. SDA plakları) üzerinde sıfır zamanda (aynı anda) 100 ul kaplayın.
6. Tüpü ve sıfır zaman plaklarını 24 saat boyunca $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de enkübe edin
7. 24 saatlik enkübasyondan sonra enkübatörden CAT broth cihazını geri alın
8. Bir mikropipet ve bir ayırıcı kullanarak, 100 µl'lik plağa (örn. SDA) ekin
9. Plakları 24 saat daha $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de enkübe edin

E. coli ile inhibisyon kontrolü

1. Bir ATCC® suşunun saf kültüründen $1,5 \times 10^8$ ufc/ml'ye karşılık gelen bir 0.5 McF hazırlayın.
2. Plağa 100 ul ektikten sonra yarı konflüent bir büyüme verebilen 0.5McF bakteri süspansiyonundan bir dilüsyon (1: 100 oranında seyreltilmiş 0.5) hazırlayın
3. Bu şekilde hazırlanan dilüsyondan 200 ul ortamı geri alın ve CAT broth ortamını inoküle edin
4. Sistemi kapatın ve tüpe 2000/2500 RPM'de 10 saniye vorteks uygulayın
5. Uygun plaktaki kültür ortamı (örn. SDA plakları) üzerinde sıfır zamanda (aynı anda) 100 ul kaplayın.
6. Tüpü ve sıfır zaman plaklarını 24 saat boyunca $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de enkübe edin
7. 24 saatlik enkübasyondan sonra enkübatörden CAT broth cihazını geri alın
8. Bir mikropipet ve bir ayırıcı kullanarak, 100 µl'lik plağa (örn. SDA) ekin
9. Plakları 24 saat daha $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de enkübe edin

T. vaginalis ile büyüme kontrolü

1. 2-3 dakika boyunca $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de mari banyosunda tamamen çözülünceye kadar dondurulmuş materyali tamamen kaplayıncaya kadar şişeyi daldırın
2. Çözüldükten hemen sonra, şu suş aseptik olarak sulandırılarak hazırlanmış ve 150µL 1N HCl ilave etmek için pH 6.0'ya getirilmiş 13 mL Broth 2154 içeren bir tüp içine aktarın. Tüpü $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 15° eğimli bir pozisyonda enkübe edin.
3. Canlı organizmaların sayısını değerlendirerek kültürün en yüksek yoğunluk değerini deneysel olarak mikroskopik inceleme ile tespit edin (normalde 3-4 gün);
4. En yüksek yoğunluk değerine ulaştığında, tüpü 10 dakika boyunca buza koyun. Tüpü yavaşça 10 defa ters çevirin ve süspansiyonun 200µL'lik kısmını bir CAT broth tüpüne aseptik olarak aktarın, hemen sıfır zamanda bir sayım yaparak yeni bir mikroskopik inceleme ile kontrol edin
5. Tüpü 72 saat boyunca 35°C 'de enkübe edin.
6. 72 saat sonra, 100 µl'lik kısmını geri alın ve yeni bir mikroskopik inceleme ile protozoanın varlığını/sayısını kontrol edin.

SONUÇLAR

ATCC® Suşu	0 saatte geri kazanılan ortalama	24 saatte geri kazanılan ortalama
<i>C. albicans</i> ATCC® 10231	186	Konflüent büyüme
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	Yarı konflüent büyüme	Inhibisyon (kısmi ila toplam arasında)

ATCC® Suşu	100µl'de 0 saatte ortalama sayım	100µl'de 72 saatte ortalama sayım
<i>T. vaginalis</i> ATCC® 30001	155	> 155

Testlerin sonuçları, laboratuvarında ATCC® suşları ile elde edilmiştir. Sonuçlar, *C. albicans* ve *E. coli* için 24 saatte ve *T. vaginalis* için 72 saatte test edilmiş üç tüpten elde edilen ortalamalar olarak tabloda ifade edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar, taşımanın ve laboratuvarında zamanında yapılan analizlerin yanı sıra, büyük ölçüde numunenin uygun ve yeterli şekilde toplanmasına bağlıdır.

BIBLIOGRAPHY

1. Krieger JN and Alderete JF. *Trichomonas vaginalis* and trichomoniasis. In: K. Holmes, P. Markh, P. Sparling et al (eds). *Sexually Transmitted Diseases*, 3rd Edition. New York: McGraw-Hill, 1999, 587-604.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* 2002;51 (No.RR-6)
3. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover. 1999. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. ASM, Washington, D.C..
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 2004. *Quality Control for commercially Prepared Microbiological Culture Media*. Approved Standard – Third Edition M22-A3
5. Miller, J. M. 1999. *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
6. Isenberg, H. D., 2004. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2nd ed. ASM, Washington, DC.
7. Atlas, R.N.1993 *Handbook of Microbiological Media* p. 147-153. CRC Press, Boca Raton, FL

INDEX OF SYMBOLS

Symbol / Simbolo / Símbolo / Symbole / Símbolos / Symbol / Symbol / Symbol / Symbol / Symbol	Meaning / Significato / Signification / Bedeutung / Sens / Significado / Význam / Betyder / Betydning / Betyder / Anlami
	Manufacturer / Fabbicante / Fabricante / Hersteller / Fabricant / Fabricante / Výrobce / Producent / Produzenten / Tiltverkare / Üretici
	CE marking / Marchio CE / Marca CE / CE-Kennzeichnung / Marquage CE/ Marcação CE / Označení CE / CE-mærke / CE-merke / CE-märkning / CE işareti
	In vitro diagnostic device / Dispositivo Diagnostico in Vitro / Dispositivo de diagnóstico in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Dispositif de diagnostic in vitro/ Dispositivo de diagnóstico in vitro / Diagnostická pomůcka in vitro / diagnostisk medicinsk anordning in vitro / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik
	Identification number of notified body / Numero di identificazione dell'organismo notificato / Identificación del organismo notificado / Identifizierung der benannten Stelle / Identification de l'organisme notifié / Identificação do organismo notificado / Identifikační číslo notifikované osoby / Identifikationsnummer for det bemyndigede organ / Identifiserings av godkjenningsorganet / Det anmälda organets identifieringskod / Onaylı kurumun tanımlama numarası
	Do not reuse / Non riutilizzare / No reutilizar / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Não voltar a utilizar / Nepoužívejte znovu / Brug det ikke igen / Må ikke gjenbrukes / Återanvänd inte / Tekrar kullanmayın
	Catalogue number / Numero di catalogo / Número de catálogo / Bestellnummer / Référence du catalogue / Número do catálogo / Číslo katalogu / Katalognummer / Katalognr / Katalognummer / Katalog numarası
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de temperatura / Temperature Begrenzung / Limites de temperature / Limites de temperatura / Teplotní limity / Temperaturgrænser / Temperaturgrenser / Temperaturgränser / Sıcaklık limitleri
	Use by / Utilizzare entro / Fecha de caducidad / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Prazo de validade / Použijte do / Anvendes før / Må brukes innen / Sista förbrukningsdag / Son kullanma tarihi
 eIFU indicator	Consult the operating instructions supplied with the device or available in electronic format, and which can be identified by the e-IFU indicator on the packaging label / Consultare le istruzioni per l'uso fornite con il dispositivo oppure disponibili in formato elettronico ed identificate dall'e-IFU indicator sull'etichetta imballo / Consultar las instrucciones de uso suministradas con el dispositivo o disponibles en formato electrónico e identificadas por el indicador e-IFU de la etiqueta del embalaje / Konsultieren Sie die Gebrauchsanweisung, die mit dem Gerät geliefert wird oder in elektronischem Format vorliegt und durch den e-IFU-Indikator auf dem Verpackungsetikett gekennzeichnet ist/ Voir le mode d'emploi fourni avec l'appareil ou disponible au format électronique et identifiable grâce à l'indicateur e-IFU sur l'étiquette de l'emballage / Ver as instruções de utilização fornecidas com o dispositivo ou disponíveis em formato eletrônico e identificadas pelo indicador e-IFU na etiqueta da embalagem / Prostudujte si návod k použití dodaný spolu s přístrojem, dostupný také v elektronické verzi po zadání ukazatele e-IFU dle štítku na obalu / Se brugsvejledningen, der følger med enheden eller er tilgængelig i elektronisk format og identificeret ved e-IFU-indikatoren på emballagemærkate/ Se bruksanvisningen eller e-bruksanvisningen hvis «eIFU-indikator» er til stede / Se bruksanvisningen som bifogas apparaten eller finns tillgänglig i elektronisk format via IFU-koden på förpackningen / Cihaz ile tedarik edilen veya elektronik şekilde ve ambalaj etiketinde e-IFU kodu ile tespit edilen kullanım talimatlarına bakınız
	Peel / Strappare per aprire / Desprender / Abziehen / Décoller / Destacar / Odrhňte a otevfete / Riv op for at åbne / Riv opp for å åpne / Dra för att öppna / Açmak için yırtın
	Batch code (Lot) / Codice del lotto (partita) / Código de lote (Lote) / Chargencode (Chagenbezeichnung) / Code de lot (Lot) / Código do lote (Lote) / Kód šarže (dávky) / Seriennummer (parti) / Lot-nummer (parti) / Partinummer (lotto) / Lot (seri) kodu
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> test / Contenido suficiente para <n> pruebas / Ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Contém o suficiente para <n> testes / Obsah dostatečný pro <n> testů / Innhold tilstrekkelig til <n> prøver / Innhold tilstrekkelig for <n> prøver / Innehåller tillräckligt för <n> tester / <n> test için yeterli içerik
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare in caso di confezionamento danneggiato / No utilizar en caso de paquete dañado / Bei Beschädigung der Verpackung nicht verwenden / Ne pas utiliser si l'emballage est abîmé / Não utilizar se a embalagem estiver danificada / Nepoužívejte v případě poškozeného obalu / Må ikke anvendes, hvis emballagen er beskadiget / Må ikke brukes hvis emballasjen er skadet / Använd inte vid skadad förpackning / Ambalajı hasar görmüşse kullanmayın

Copan



Copan Italia S.p.A.
Via F. Perotti, 10
25125 Brescia, Italy
Tel +39 030 2687211
Fax +39 030 2687250

Email: info@copangroup.com
Website: www.copangroup.com

North American Distributor:

Copan Diagnostics Inc.
26055 Jefferson Avenue
Murrieta, CA 92562, USA
Tel: 951-696-6957
Fax: 951-600-1832

E-mail: customerservice@copanusa.net
Website: www.copanusa.com