



MSwab[®]

Instructions for Use

CE IVD

Copan MSwab® collection, transport and preservation system for molecular and culture applications

Instructions for use

INTENDED USE

The MSwab® system is used for the collection, transport and preservation of clinical specimens from the collection site to the testing laboratory. In the laboratory, specimens collected in MSwab® system can be analysed using standard clinical procedures for:

- bacterial culture of aerobic and facultative anaerobic gram-positive microorganisms;
- viral culture of HSV 1 and HSV 2 viruses;
- Nucleic acid detection of bacteria and viruses.

SUMMARY AND PRINCIPLES

One of the routine procedures in diagnosing bacterial infections involves the safe collection and transport of swab specimens. This can be accomplished by using the Copan MSwab® collection, transport and preservation system. The medium has been designed to maintain the viability of aerobic and facultative anaerobic gram-positive bacteria and HSV 1 and HSV 2 viruses during transport to the testing laboratory.

In addition, Copan MSwab® allows preserving nucleic acids of pathogens to be identified using molecular amplification techniques (NAAT).

Copan MSwab® Collection, Transport and Preservation System is supplied in three different formats:

- a) Collection kit format. Each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml or 3 ml of MSwab® transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwabs® that has a tip flocced with nylon fiber.
- b) Tube only format. A plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml, 2 ml or 3ml of MSwab® transport and preservation medium.
- c) Collection kit format with a cleaning swab. Each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 2 ml of MSwab® transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwabs® that has a tip flocced with nylon fiber and a sterile peel pouch containing one cleaning swab with large tip in fiber wound for the removal of excess vaginal mucus.

Once the specimen has been collected using the swab, it must immediately be inserted into the MSwab® test tube containing the transport and preservation medium. Specimens collected using MSwab®, to be analysed using bacterial or viral culture techniques, must be transported directly to the laboratory, preferably within 2 hours from collection^(1, 2, 7); in order to maintain optimal microorganisms viability. If immediate specimen delivery or analysis is delayed, specimens can be refrigerated at 4-8°C or stored at room temperature (20-25°C) and analysed within 48 hours from sampling. Bacterial viability studies for *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 and ATCC® 6538, and *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant) ATCC® 43300 and ATCC® 700698 show viability of the tested microorganisms for up to 14 days in a refrigerated environment (4-8°C) or 72 hours at room temperature (20-25°C). Independent scientific studies on swab transport systems show that the viability of some bacteria is higher at refrigerated temperature than at room temperature⁽¹²⁻²¹⁾.

If viral samples must be frozen, they should be frozen at -70°C.

Specimens collected using MSwab® to detect bacterial or viral nucleic acids must be analysed within 14 days if stored at room temperature (20-25°C), within 21 days if stored at 4°C and within 6 months if stored at -20°C.

REAGENTS

MSwab® transport medium formulation

Distilled water
Organic solvent
Buffer
Bovine serum albumin

pH: 8.5 ± 0.20

REQUIRED MATERIALS BUT NOT PROVIDED

Materials suitable for aerobic and facultative anaerobic gram-positive bacteria isolation and culture.

These materials include culture plates or test tubes and incubation systems. Refer to the laboratory manuals for the recommended protocols relative to the techniques for aerobic and facultative anaerobic bacteria culture and identification from clinical specimen swabs^(2, 4). Materials suitable for virus isolation, differentiation and culture. These materials include cell lines for tissue culture, culture medium for tissues, incubation systems and reading instruments. Refer to the appropriate references for the recommended protocols for virus isolation and identification^(1, 7). Materials suitable for the extraction and amplification of nucleic acids for molecular biological testing. Heating and centrifuge block for quick extraction methods. Refer to laboratory reference manuals for identification and amplification of nucleic acids in clinical swab samples.

In the case of rapid extraction methods, it is suggested to transfer the appropriate aliquot of MSwab® (refer to the section **Processing MSwab® specimens for molecular testing in the laboratory, Method B**) to Copan test tubes with glass beads (code available separately 2E013S50).

PRODUCT STORAGE

The product is ready for use and does not require further preparation. It must be stored in its original container at 5-25°C until used. Do not overheat. Do not incubate or freeze prior to use. Incorrect storage will result in loss of effectiveness. Do not use after the expiry date, which is clearly printed on the outer box and on each individual collection unit and the specimen transport tube label.

SPECIMEN COLLECTION, TRANSPORT AND PRESERVATION

Specimens collected for microbiological investigations which comprise the isolation of bacteria or viruses should be collected and handled following published manuals and guidelines^(7, 6, 4).

To maintain optimum microorganisms viability and nucleic acids integrity, transport specimens collected using MSwab® directly to the laboratory, preferably within 2 hours of collection ^(1, 2, 7). If immediate delivery or processing is delayed, then specimens should be refrigerated at 4 – 8°C or stored at room temperature (20 – 25°C) and processed within 48 hours. Bacterial viability studies for *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 and ATCC® 6538, and *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant) ATCC® 43300 and ATCC® 700698 show viability of the tested microorganisms up to 14 days at refrigerated temperature (4 – 8°C) or 72 hours at room temperature (20 – 25°C). If viral samples must be frozen, they should be frozen at -70°C.

Specimens collected using MSwab® to be analyzed with NAAT should be processed within 14 days when stored at room temperature (20 – 25°C), within 21 days when stored at 4°C and within 6 months when stored at -20°C.

Performance testing with Copan MSwab® was conducted using laboratory strains suspensions spiked onto the FLOQSwabs® associated to the medium. Tested strains include: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (methicillin resistant) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, Influenza A virus ATCC® VR-822, Influenza B virus ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 and *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. Performance testing was not conducted using human specimens or human matrices.

Specific requirements for the shipment and handling of specimens should be in full compliance with state and federal regulations ^(34, 35, 36, 37). Shipping of specimens within medical institutions should comply with internal guidelines of the institution. All specimens should be processed as soon as they are received in the laboratory.

MATERIAL SUPPLIED

Fifty (50) units of Copan MSwab® System are contained in a box and 6 boxes x 50 units are contained in a carton.

Copan MSwab® Collection, Transport and Preservation System is supplied in three different formats:

1. Collection kit format: each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml or 3 ml of MSwab® transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwabs® that has a tip flocced with nylon fiber (Fig.2a).
2. Tube only format: a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml, 2 ml or 3 ml of MSwab® transport and preservation medium.
3. Collection kit format with a cleaning swab: each collection kit consists of a package containing a plastic screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 2 ml of MSwab® transport and preservation medium and a small sterile peel pouch containing one specimen collection FLOQSwabs® that has a tip flocced with nylon fiber (Fig.2a) and a sterile peel pouch containing one cleaning swab with large tip in fiber wound for the removal of excess vaginal mucus (Fig.2b).

There are two types of specimen collection swabs: a standard-size swab with Nylon flocced tip intended for the collection of specimens from anatomical sites such as throat, vagina, wounds, rectum and faeces; a flexible minitip with Nylon flocced tip for nasopharyngeal collection. All flocced swabs supplied with MSwab® have a breakpoint on the swab shaft marked with a coloured line.

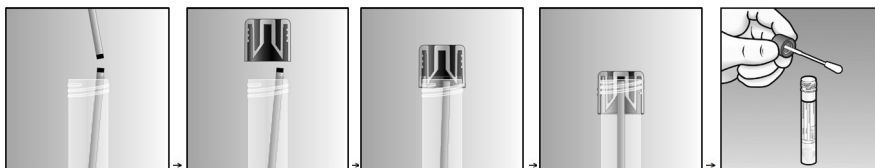
After collecting the specimen from the patient, the pre-moulded breakpoint facilitates breakage of the applicator into the test tube containing the MSwab® transport medium. The special shape of the capture caps and the test tubes allows capturing the swab shaft after it is broken off and the cap is closed (see Fig.1).

Screwing the cap onto the test tube, the end of the shaft is moved into the cavity of the cap. When the test tube is opened in the testing laboratory, the applicator remains attached to the cap and the operator can easily remove the swab from the test tube and perform microbiological analyses using the cap as a handle to hold the swab applicator.

The Capture Cap feature is only guaranteed when using the Copan standard-size flocced swab.

The Capture Cap feature is not applicable to the pernasal swab (REF. 6E013N and 6E092N01).

Fig. 1 - Capture of the broken swab shaft in the cap of the MSwab® test tube



LIMITATIONS

1. The conditions, time and volume of the specimens collected for culture are significant variables for obtaining reliable results. Follow the recommended guidelines for specimen collection ^(7, 8, 4).
2. MSwab® may not be used as enrichment, selective or differential medium.
3. MSwab® medium does not contain antibiotics. Patient specimens which may contain a high load of bacterial contaminants may require adding antibiotics to the cell preservation and culture medium.
4. The Copan MSwab® performance tests were conducted using laboratory strains applied on a swab following the test protocols described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 Approved Standard ⁽⁹⁾. The performance tests were not conducted using human specimens.
5. The Copan MSwab® performance tests were conducted using Copan flocced swabs.
6. Take the necessary precautions against the biological risk and use approved aseptic techniques. The product may only be used by trained and qualified persons.

WARNINGS

1. When handling clinical specimens in the laboratory, wear gloves and any other protection devices necessary. When handling or analysing specimens from a patient, observe Biosafety Level 2 established by the CDC ^(51, 32, 33, 34).
2. For in vitro diagnostic use.
3. Do not re-sterilize unused swabs.

4. This product is for single use only; reuse may cause a risk of infection and/or inaccurate results.
5. Do not re-pack.
6. Not suitable for any other application than intended use.
7. Use of the product with a rapid diagnostic kit or with diagnostic instruments must be validated by the user a priori.
8. Do not use excessive force, pressure or bending when collecting swab samples from patients as this may result in breakage of the swab shaft.
9. Do not use the same test tube for more than one patient. This will result in incorrect diagnosis. Before transporting, make sure MSwab® screw cap is tightly closed.
10. Do not bend the collection swab before use.
11. Do not use the Mswab® medium to pre-moisten or pre-wet the swab applicator before collecting the specimen or to moisten the sampling sites.
12. Avoid contact of the MSwab® medium with skin and mucous membranes. If contact occurs, rinse with plenty of water.
13. Do not ingest the transport medium.
14. Carefully follow the instructions for use.
15. The product may only be handled by trained persons.
16. Observe approved biohazard precautions and aseptic techniques.
17. Repeated freezing and thawing of specimens may reduce the recovery of viable organisms ^(6,35).
18. Condition, timing and volume of specimen collected for culture are significant variables in obtaining reliable culture results. Follow recommended guidelines for specimen collection.
19. It must always be assumed that all specimens contain infected microorganisms and the utmost caution is therefore recommended. After use, dispose of the test tubes and the swabs in accordance with the laboratory procedures for infected waste. Observe Biosafety Level 2 established by the CDC ^(31, 32, 33, 34). Discard unused reagents, waste and specimens according to local regulations.
20. Copan MSwab® must not be used if (1) there is evidence of product damage (e.g. broken swab tip or shaft), or contamination, (2) there is evidence of leakage, (3) the expiry date has passed, (4) the swab package is open, (5) there are other signs of deterioration.
21. Due to the geometry of the Flexible Minitip, the swab may coil when placed into the test tube, therefore, if should be necessary remove the swab from the tube, pay attention and observe appropriate biohazard precautions to protect the operator and the environment in case of splashes.
22. Check the version of the operating instructions. The correct version is the one supplied with the device or available in electronic format, and can be identified by the e-IFU indicator on the packaging label.

INSTRUCTIONS FOR USE

Copan MSwab® is ready for use and does not require further preparation. It is available in the different configurations shown in Table 1.

REF.	Copan MSwab® product description	Package
6E012N	Sample collection pack containing: - 12x80mm test tube with screw cap containing 1ml of MSwab® preservation and transport medium. - Standard-size FLOQSwabs® swab with Nylon flocked tip, sterile and individually wrapped.	50 units/box of 6x50 units/cardboard box
6E013N	Sample collection pack containing: - 12x80mm test tube with screw cap containing 1ml of MSwab® preservation and transport medium. - Flexible minitip with Nylon flocked tip, sterile and individually wrapped	50 units/box of 6x50 units/cardboard box
6E092N01	Single transport and preservation tube: - 16x100mm round-bottom test tube with screw cap containing 3 ml of MSwab® preservation and transport medium. - Flexible minitip swab with Nylon flocked tip, sterile and individually wrapped	50 units/box of 6x50 units/cardboard box
6E011N	Single transport and preservation tube: - 12x80mm tapered-bottom test tube with screw cap containing 1ml of MSwab® preservation and transport medium.	50 units/box of 6x50 units/cardboard box
6U019N	Single transport and preservation tube: - 12x80mm tapered-bottom test tube with screw cap containing 2ml of MSwab® preservation and transport medium.	50 units/box of 6x50 units/cardboard box
6E076N	Single transport and preservation tube: - 12x80mm tapered-bottom test tube with screw cap containing 3ml of MSwab® preservation and transport medium.	50 units/box of 6x50 units/cardboard box
6E028N.MER	Single use sample collection pack containing: - 12x80mm test tube with screw cap containing 2ml MSwab® storage and transport medium. - Standard-size FLOQSwabs® swab with Nylon flocked tip, sterile and individually wrapped. - Cleaning swab with Rayon fiber large tip, sterile and individually wrapped.	50 units/box of 6x50 units/cardboard box

Table 1

Specimen collection

Proper specimen collection from the patient is extremely critical for successful isolation and identification of infectious microorganisms. For specific guidance regarding specimen collection procedures, consult published reference manuals (7, 2).

For MSwab® codes 6E012N, 6E013N and 6E092N01:

1. Open the MSwab® kit package, remove the test tube containing the medium and the inner pouch containing the sterile swab.
2. Remove the sterile swab from its pouch (see Figure 2) and collect the clinical specimen. The operator must touch the swab applicator only above the colored breakpoint line, as illustrated in Figure 2, which is the opposite end to the nylon fiber tip. At all times when handling the swab applicator, the operator must not touch the area below the colored breakpoint line (the area from the line to the tip of the nylon flocked swab) as this will lead to contamination of the applicator shaft and the subsequent culture. To prevent the risk of contamination, ensure that the swab tip only comes into contact with the collection site.
3. Collect the sample from the patient.
4. Unscrew and remove the cap from MSwab® tube making sure not to spill the medium.
5. After collecting the specimen, insert the swab into the test tube until the breakpoint is at the level of the test tube opening. Bend the swab shaft at a 180 degree angle to break it at the red marked breakpoint. If necessary, gently turn the swab shaft until it is completely broken off and remove the upper part of the swab shaft (Figure 2).
6. Discard the broken off part of the swab shaft in an approved medical waste disposal container.
7. Replace cap on the tube and secure tightly.
8. Write the patient name and data on the test tube label or apply patient identification label.
9. Send the specimen to the laboratory.

For MSwab® code 6E028N.MER:

1. Open the kit package, remove the test tube containing the transport medium and the two inner pouches, one containing the sterile swab and one containing the "Cleaning Swab".
2. Use of the cleaning swab is recommended only in the case of an endocervical specimen collection procedure. The cleaning swab with large tip in fiber tip (see Figure 2.b) is only used to remove excess mucus present at the level of the uterine cervix opening and the surrounding mucous membranes. **After use, discard the swab in an approved sanitary waste container.** In case of procedures for collecting specimens other than endocervical specimens, the cleaning swab must not be used and must be discarded.
3. For clinical specimen collection, follow the instructions for codes 6E012N, 6E013N and 6E092N01 from step 2 onward.

For MSwab® codes 6E011N, 6U019N and 6E076N:

1. After collecting the specimen from the patient using a swab, unscrew and remove the cap from the MSwab® test tube being careful not to spill the transport medium.
2. Insert the swab into the test tube.
3. If the swab has a breakpoint, bend and break the swab at the breakpoint taking care to hold the test tube away from your face.
4. Replace cap on the tube and secure tightly.
5. Write the patient name and data on the test tube label or apply patient identification label.
6. Send the specimen to the laboratory.

Fig. 2 - Collection swab with breakpoint indication line and applicator handling area

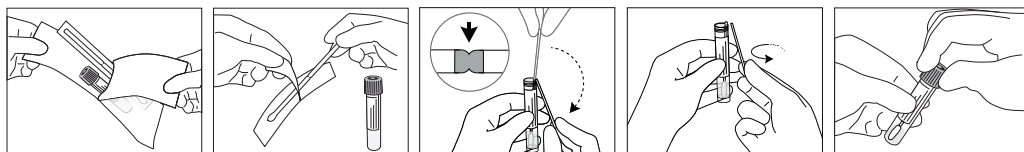


Fig. 2.a COLLECTION SWAB

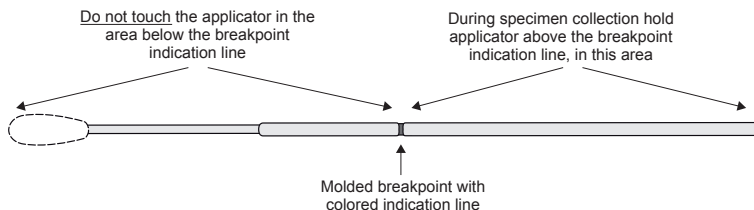
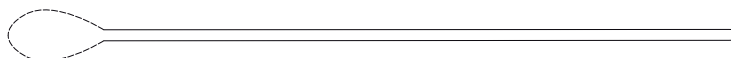


Fig 2.b CLEANING SWAB



Processing MSwab® specimens in the laboratory – Bacteriology

MSwab® samples should be processed for bacteriological culture using recommended culture media and laboratory techniques which will depend on the specimen type and the organism under investigation. For recommended culture media and techniques for the isolation and identification of bacteria from clinical swab specimens refer to published microbiology manuals and guidelines⁽¹⁻⁶⁾.

Culture investigations of swab specimens for the presence of bacteria routinely involve the use of solid agar culture medium in Petri dish plates. The procedure for inoculation of MSwab® samples onto solid agar in Petri dishes is as follows.

Note: When handling clinical specimens, wear latex gloves and any other protection devices necessary. Observe the other Biosafety Level 2 recommendations issued by the CDC^(31, 32, 33, 34).

Collection Kit Format (with or without cleaning swab):

Vortex the MSwab® test tube containing the specimen collected with the swab for 5 seconds and evenly disperse and suspend the patient specimen in the transport medium.

1. Unscrew the MSwab® cap and remove the swab applicator.
2. Roll the tip of the MSwab® applicator onto the surface of one quadrant of the culture media plate to provide the primary inoculum.
3. If it is necessary to culture the swab specimen onto a second culture media plate, return the MSwab® applicator to the transport medium tube for two seconds to absorb and recharge the applicator tip with transport medium/patient sample suspension then repeat Step No. 3.
4. If it is necessary to inoculate additional culture media plates, return the MSwab® applicator to the transport medium tube and recharge the swab applicator tip with the transport medium/patient sample suspension before inoculating each additional plate.

The procedure described above utilizes the MSwab® applicator like an inoculation wand to transfer the suspension of patient sample in transport medium onto the surface of a culture plate creating the primary inoculum (see Fig 3).

Alternatively, the operator can vortex mix the MSwab® tube with the swab inside for 5 seconds and then transfer 100µl volumes of the suspension onto each culture plate using a volumetric pipettor and sterile pipet tips. Standard laboratory techniques should then be used to streak the primary inoculum of patient sample across the surface of the culture plate (see Fig 4).

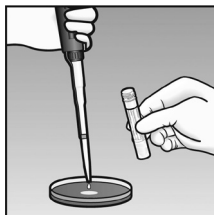
Tube Only Format:

Vortex the MSwab® test tube containing the specimen for 5 seconds and evenly disperse and suspend the patient specimen in the transport medium. Transfer a minimum of 100µl volumes of the suspension onto each culture plate using a volumetric pipettor and sterile pipet tips. Standard laboratory techniques should then be used to streak the primary inoculum of patient sample across the surface of the culture plate (see Fig 4).

Fig. 3 - Inoculation procedures of MSwab® specimens on solid agar in Petri dishes



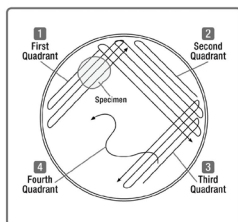
1. Use the swab to inoculate the specimen.



2. Use a pipettor and sterile pipet tips to inoculate a minimum of 100µl of specimen.

This inoculation procedure should be considered preferable if the clinical specimen is also analysed using NAAT techniques.

Fig. 4 - Procedure for streaking MSwab® specimens on agar Petri dishes for primary isolation⁽³³⁾



Seed a primary inoculum of MSwab® specimen onto the surface of an appropriate agar culture plate in the first quadrant.

Use a sterile bacteriology loop to streak the primary inoculum across the surface of the second, third and fourth quadrants of the agar culture plate.

Preparation of Gram Stain Smears of MSwab® Specimens

Laboratory analysis of clinical swab samples collected from certain sites on the patient can routinely include microscopic examination of stained preparations ("direct smears") using the Gram stain procedure. This can provide valuable information to physicians who are managing patients with infectious diseases⁽²²⁾. There are many instances in which a Gram stain can assist in making a diagnosis^(23, 27).

The Gram stain can also help to judge specimen quality and contribute to the selection of culture media especially with mixed flora.

Microscope slides of patient specimens transported in Copan MSwab[®] transport system can be prepared for Gram stain analysis, as describe below, by sampling an aliquot of vortexed suspension of the swab^(3,4). Sample transported in MSwab[®] elution medium represent a homogeneous suspension in liquid phase. It can be uniformly smeared allowing clear and easy reading.

Note: When handling clinical specimens, wear latex gloves and any other protection devices necessary. Observe the other Biosafety Level 2 recommendations issued by the CDC^(31, 32, 33, 34).

1. Take a clean glass microscope slide, place it on a flat surface and inscribe an area using a diamond-tipped or similar glass marker to identify the location of the specimen inoculum. Note: a slide with a pre-marked 20 mm well can be used.
2. Vortex mix the MSwab[®] tube containing the swab sample for 5 seconds to release the sample from the swab tip and evenly disperse and suspend the patient specimen in the medium.
3. Unscrew the MSwab[®] cap and using a sterile pipet, transfer 1 – 2 drops of sample suspension to the inscribed area on the glass slide. Note: about 30µl would be a suitable amount of liquid for a pre-marked 20 mm diameter well slide.

In case of bloody or thicker specimens particular care should be taken to thinly spread the sample on the slide. Bacteria are difficult to detect if the sample shows many red cells and debris.

4. Allow the specimen on the slide to air dry at room temperature or place the slide in an electric slide warmer or incubator set at a temperature not exceeding 42°C.
5. Fix smears using methanol. Methanol fixation is recommended as it prevents lysis of Red Blood Cells, avoids damage to all host cells and results in a cleaner background^(3, 4, 22).
6. Follow published laboratory reference manuals and guidelines for performing the Gram stain. If commercial Gram stain reagents are used, it is important to comply with instructions in the manufacturer's product insert for performance test procedure.

For further information or guidance on the preparation of specimen slides for microscopic analysis, for information on Gram staining procedures and the interpretation and reporting of microscopic analysis, consult published laboratory reference manuals^(1 - 5, 22 - 27).

Processing MSwab[®] specimens in the laboratory – Virology

The survival of HSV 1 and HSV 2 depends on many factors including the type and concentration of the microorganism, duration of transport and storage temperature. To maintain optimum viability, specimens should be transported directly to the laboratory preferably within 2 hours of collection^(1, 2, 7, 29). If immediate delivery or processing is delayed, then specimens collected using Copan MSwab[®] Collection, Transport and Preservation System should be refrigerated at 4-8°C or stored at room temperature (20-25°C) and processed within 48 hours. If samples must be frozen, they should be frozen placed at -70°C.

In simulated transport and storage studies, the Copan MSwab[®] System was shown to be capable of maintaining the viability of HSV 1 and HSV 2 at refrigerated (4-8°C) and room temperature (20-25°C) conditions for up to 48 hours. Based on performance studies conducted by Copan and independent scientific publications, viability of certain microorganisms is superior at refrigerated temperatures compared with room temperature^(12 - 21, 29).

MSwab[®] specimens should be processed for virology culture using recommended cells line and laboratory techniques that will depend on the specimen type and the microorganism under investigation. For recommended shell vials and techniques for the isolation and identification of HSV 1 and HSV 2 from clinical swab specimens, refer to published virology manuals and guidelines^(1 - 6, 29, 30).

Culture investigations of swab specimens for the presence of HSV 1 and HSV 2 routinely involve the use of cells culture in shell vials. The procedure for inoculation of MSwab[®] specimens onto shell vials is described below.

NOTE: Wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other BSL 2 recommendations.

Collection Kit Format:

1. Shake using a vortex mixer for 5 seconds the MSwab[®] tube containing the swab specimen to release the specimen from the swab tip and evenly disperse and suspend the patient specimen in the liquid transport medium.
2. Unscrew the MSwab[®] cap and remove the swab applicator.
3. Transfer 200 µl volumes of the suspension into the shell vial and proceed as per laboratory internal procedure.
NOTE: Patient specimen that may contain a high load of bacterial contaminants may require additional antibiotics into the refeed medium.
4. Proceed with the appropriate techniques for virus detection.

Tube Only Format:

1. Shake using a vortex mixer for 5 seconds the MSwab[®] tube.
2. Unscrew the MSwab[®] cap and transfer 200 µl volumes of the suspension into the shell vial and proceed as per laboratory internal procedure.
NOTE: Patient specimen that may contain a high load of bacterial contaminants may require additional antibiotics into the refeed medium.
3. Proceed with the appropriate techniques for virus detection.

Processing MSwab[®] specimens for molecular analysis in the laboratory

Specimens received in the laboratory for nucleic acid detection should be processed when received in the laboratory. In case of delay, please refer to the appropriate specimen storage conditions.

NOTE: Use latex gloves and other general means of protection to handle clinical specimens. Follow Biosafety Level (BSL) 2 established by the CDC^(31, 32, 33, 34).

When working with molecular methods care should be taken to prevent carry over contamination. Spatial separation of working areas and unidirectional workflow are essential to prevent amplicon carry-over⁽³⁵⁾.

MSwab[®] medium formulation has been developed to be compatible with PCR Master Mixes; this makes it suitable for direct NAAT assays without the need of a standard extraction and purification step.

Two different methods (A and B) can be applied to MSwab® sample processing:

A) Standard extraction method

1. Mix the MSwab® test tube in a vortexer for 10 seconds;
2. Unscrew the cap (NOTE: for tube only format go to point 4) and, holding it between thumb and index finger, spin it to extract most of the fluid from the tip.
3. Discard the swab;
4. Transfer the appropriate amount of specimen (e.g. 200 µl) to an extraction tube following normal laboratory procedures. For code 6E013N and 6E092N01 where the capture cap feature is not available, use tweezers to extract the applicator from the tube. Use caution and observe adequate biohazard precaution to protect the operator and the environment in case of splash.
5. Continue in accordance with the extraction and amplification procedures of the kits used.

The MSwab® system has been validated using the following extraction methods: silica-gel membrane (Qiagen, Macherey & Nagel) and magnetic beads (easyMAG, Qiasymphony, Magnapure). Other extraction methods are applicable after validation by the end user.

B) Rapid extraction method

A thermal shock step is suggested to lyse samples for viral detection.

1. Vortex the original test tube of the MSwab® specimen for 10 seconds.
2. Using a micropipette, transfer 200µl of the MSwab® specimen to a sterile micro test tube containing glass beads (2E013S50: Copan test tube with glass beads, available separately) and vortex for 10 seconds. Store the original MSwab® specimen for culture or additional testing.
3. Heat the micro test tube in a thermostat set to 98-100°C for at least:
 - 3 min FOR VIRUSES
 - 10 min FOR BACTERIA GRAM POSITIVE
 - 5 min FOR BACTERIA GRAM NEGATIVE
4. Cool the test tube at room temperature for 5 minutes
5. Centrifuge the micro test tube at 10000xg for 2 minutes to settle cell debris.
6. Transfer an aliquot of the processed MSwab® specimen to the master mix and proceed with the amplification step in accordance with the amplification kit procedure.

Rapid extraction method as described above has been tested with R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, with Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit and with Genesig Real Time PCR kits by Primer Design in comparison with standard extraction method. Other PCR amplification kit may be also applicable prior validation. Tested strains include: B. pertussis (ATCC® 8467), S. aureus (methicillin resistant) (ATCC® 43300), E. coli O157-H7 (ATCC® 700728), S. typhimurium (ATCC® 14028), C. difficile (ATCC® 9689), Influenza A virus (ATCC® VR-822), Influenza B virus (ATCC® VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC® 43069) and Chlamydia trachomatis (ATCC® VR880). Tests were not conducted using human matrices. Results obtained will largely depend on proper and adequate specimen collection, as well as timely transport and processing in the laboratory.

QUALITY CONTROL

MSwab® applicators are tested to ensure they are non-toxic to bacteria. MSwab® medium and applicators are tested to ensure they are non-toxic to cell lines used for HSV 1 and HSV 2 cultivation. MSwab® transport medium is tested for pH stability and for absence of inhibitors with direct nucleic acid amplification⁽⁹⁾. MSwab® is quality control tested before release for ability to maintain viable Gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria and HSV viruses at room temperature (20 – 25°C) for specified time points.

Procedures for quality control of microbiology transport devices should be conducted using testing methods described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 and other publications⁽⁹⁾. If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

RESULTS

The results obtained will depend largely on proper and adequate specimen collection as well as prompt transport and proper processing in the laboratory.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Bacterial recovery

The test procedures employed for determining bacterial viability performance were based upon the quality control methods described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2⁽⁹⁾.

MSwab® system has an intended use limited to Gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria and HSV 1 and HSV 2, therefore its field application is more restricted than some other devices. For this reason the bacterial recovery studies were conducted under the simulated transport and storage conditions as described and defined in CLSI M40-A2, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard and included only the Gram positive aerobic and facultative anaerobic strains from the Group 1 of paragraph 7.11.1 of the CLSI M40-A2 document, in particular:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

In addition, Copan included testing of additional Gram positive aerobic and facultative anaerobic microorganisms, clinically relevant, not required by CLSI M40-A2. The specific bacterial strains used in these studies are here listed:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Group B Strep)	ATCC® 13813
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (Methicillin resistant)	ATCC® 700698

All cultures of bacteria were ATCC® (American Type Culture Collection) and were obtained commercially.

The selection of these organisms also reflects those Gram positive aerobic and facultative anaerobic bacteria that would normally be encountered in specimens collected and analyzed in a typical clinical microbiology laboratory.

Bacterial viability studies were performed on the Copan MSwab® at two different ranges of temperature, 4 – 8°C and 20 – 25°C, corresponding to refrigerator and room temperature, respectively. Swabs accompanying each transport system were inoculated in triplicate with 100µl of specific concentrations of organism suspension. Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and were held for 0 hrs, 24 hrs and 48 hrs. At the appropriate time intervals, each swab was processed according to the Roll-Plate or Swab Elution Method.

Additional bacterial viability studies for *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 and ATCC® 6538, and *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant) ATCC® 43300 and ATCC® 700698 were performed on the Copan MSwab® at two different ranges of temperature, 4 – 8°C and 20 – 25°C, corresponding to refrigerator and room temperature, respectively.

Swab accompanying the transport system was inoculated in triplicate with 100µl of specific concentrations of organism suspension. Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and:

For studies performed at 4 – 8°C inoculated MSwab® tubes were held for 0 hrs, 10 days and 14 days. At the appropriate time intervals, each MSwab® was processed according to the Roll-Plate Method.

For studies performed at 20 – 25°C inoculated MSwab® tubes were held for 0 hrs and 72 hrs. At the appropriate time intervals, each MSwab® was processed according to the Roll-Plate Method.

Bacterial overgrowth studies were performed on the Copan MSwab® at 4 – 8°C, corresponding to refrigerator temperature. Swabs accompanying each transport system were inoculated in triplicate with 100µl of specific concentrations of organism suspension. Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and were held for 0 hrs and 48 hrs. At the appropriate time intervals, each swab was processed according to the Roll-Plate Method.

Bacterial overgrowth studies were performed using *Pseudomonas aeruginosa*.

Viral infectivity studies were performed using HSV 1 and HSV 2. Swabs accompanying each transport system were directly inoculated in triplicate with 100µl of viral suspension. Swabs were then placed in their respective transport medium tubes and were held for 0, 24 and 48 hours at both 4°C and room temperature (20-25°C). At the appropriate time interval, each swab was vortexed, removed from its transport medium tube and then 200µl aliquots of this suspension was inoculated into shell vials. All cultures were processed by standard laboratory culture technique and examined after a specified incubation time. Viral infectivity was determined by fluorescing foci counts.

Viruses evaluated were:

Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV 1)	ATCC® VR-539
Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV 2)	ATCC® VR-734.

In accordance with Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2, viability performance is measured for each test microorganism at the 48 hrs time point and compared with the acceptance criteria.

In both the Roll-Plate and Swab Elution viability performance studies, Copan MSwab® System was able to maintain acceptable recovery of all organisms evaluated at both refrigerator (4 – 8°C) and room temperature (20 – 25°C). Acceptable recovery for the Roll-Plate Method is defined as ≥5 CFU following the specified holding time from the specific dilution that yielded zero-time plate counts closest to 300 CFU. Acceptable recovery for the Swab Elution Method is defined as no more than a 3 log₁₀ (1 x 10³ +/- 10%) decline in CFU between the zero-time CFU count and the CFU of the swabs after the specified holding time.

Additional time-points were tested for *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 and ATCC® 6538, and *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant) ATCC® 43300 and ATCC® 700698.

In the Roll-Plate viability performance studies, Copan MSwab® System was able to maintain acceptable recovery of all microorganisms evaluated at both refrigerator (4 – 8°C) for 14 days and room temperature (20 – 25°C) for 72 hrs. Acceptable recovery for the Roll-Plate Method is defined as ≥5 CFU following the specified holding time from the specific dilution that yielded zero-time plate counts closest to 300 CFU.

Viability performance studies also include an assessment of bacterial overgrowth at refrigerated temperatures (4 – 8°C). For the Swab Elution Method, an overgrowth assessment is made on all bacteria species tested at the 48 hrs holding time point. Overgrowth assessment using the Swab Elution Method is defined as greater than 1 log₁₀ increase in CFU between the zero-time CFU count and the holding time point. For the Roll-Plate Method, an overgrowth assessment is made with a separate analysis in which swabs are dosed with 100µl containing 10² CFU of *Pseudomonas aeruginosa* culture. Overgrowth under these conditions is defined as greater than 1 log₁₀ increase in CFU between zero-time CFU and the 48 hrs holding time point.

Copan MSwab® System demonstrated no overgrowth based on the acceptance criteria described in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2.

Copan MSwab® System was able to maintain the infectivity of the following viruses for at least 48 hours at both room temperature (20-25°C) and in the refrigerator (2-8°C) under the test conditions described above: Herpes Simplex Virus Type 1, Herpes Simplex Virus Type 2.

Nucleic acid preservation

Specimens collected using MSwab® to be analysed using nucleic acid amplification techniques must be processed within 14 days of sampling when stored at room temperature (20-25°C), within 21 days when stored at 4°C and within 6 months if stored at -20°C.

Performance tests with Copan MSwab® were conducted using suspensions of laboratory strains placed on the FLOQSwabs® swab associated with the medium. Tested strains include: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (methicillin-resistant) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, Influenza A virus ATCC® VR-822, Influenza B virus ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 and *C. trachomatis* ATCC® VR880. Performance tests were not conducted using human clinical specimens and/or matrices of human origin.

The results obtained mainly depend on appropriate and adequate specimen collection, as well as prompt transport and processing in the laboratory.

TABLE OF SYMBOLS

See the table of symbols at the end of the instructions for use.

Sistema di raccolta, conservazione e trasporto Copan MSwab® per applicazioni molecolari e di coltura

Istruzioni per l'uso

USO PREVISTO

Il sistema MSwab® viene utilizzato per la raccolta, il trasporto e la conservazione di campioni clinici dal sito di prelievo al laboratorio di analisi. In laboratorio, i campioni conservati nel sistema MSwab® possono essere analizzati mediante procedure cliniche standard per:

- coltura batterica di microrganismi gram-positivi aerobi e anaerobi facoltativi
- coltura di virus HSV 1 e HSV 2
- ricerca di acidi nucleici di batteri e virus

SOMMARIO E PRINCIPI

Una delle procedure di routine nella diagnosi delle infezioni batteriche prevede la raccolta e il trasporto in sicurezza di campioni prelevati per mezzo di tamponi. A tale scopo si può utilizzare il sistema di raccolta, conservazione e trasporto Copan MSwab®. Il terreno è concepito per preservare la vitalità dei batteri gram-positivi aerobi e anaerobi facoltativi e dei virus HSV 1 e HSV 2 durante il trasporto fino al laboratorio di analisi.

Inoltre, Copan MSwab® permette di preservare gli acidi nucleici dei patogeni da identificare tramite tecniche di amplificazione molecolare (NAAT).

Il sistema di raccolta, trasporto e conservazione Copan MSwab® è disponibile in tre diversi formati:

- Formato kit di prelievo. Ogni kit di prelievo è costituito da una confezione contenente una provetta in plastica con tappo a vite, con fondo conico, riempita con 1 ml o 3ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab®, e una busta a strappo sterile contenente un tampone FLOQSwabs® con punta floccata in fibra di nylon per il prelievo del campione.
- Formato solo provetta. Una provetta in plastica con tappo a vite, con fondo conico, riempita con 1 mL, 2 mL o 3 mL di terreno di trasporto e conservazione MSwab®.
- Formato kit di prelievo con tampone di pulizia. Ogni kit di prelievo è costituito da una confezione contenente una provetta in plastica con tappo a vite, con fondo conico, riempita con 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab®, nonché una busta a strappo sterile contenente un tampone FLOQSwabs® con punta floccata in fibra di nylon per il prelievo del campione e una busta a strappo sterile contenente un tampone di pulizia con una punta più larga in fibra avvolta per l'eliminazione del muco vaginale in eccesso.

Una volta raccolto il campione mediante l'utilizzo del tampone, questo deve essere inserito immediatamente nella provetta MSwab® contenente il terreno di trasporto e conservazione. I campioni raccolti tramite MSwab®, da analizzare con tecniche di coltura batterica o virale, devono essere trasportati direttamente al laboratorio, preferibilmente entro 2 ore dalla raccolta^(1, 2, 7) al fine di preservare una vitalità ottimale dei microrganismi. Se la consegna del campione al laboratorio o l'analisi non sono immediate e devono essere ritardate, i campioni possono essere refrigerati a 4 – 8°C o conservati a temperatura ambiente (20 – 25°C) e analizzati entro 48 ore dal campionamento. Gli studi sulla vitalità batterica di *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 e ATCC® 6538, e di *Staphylococcus aureus* (resistente alla meticillina) ATCC® 43300 e ATCC® 700698 dimostrano che la vitalità dei microrganismi testati perdura fino a 14 giorni se mantenuti in ambiente refrigerato (4 – 8°C) o per 72 ore a temperatura ambiente (20 – 25°C). Studi scientifici indipendenti sui sistemi di trasporto dei tamponi dimostrano che per alcuni batteri la vitalità è maggiore a temperatura refrigerata che a temperatura ambiente^(12 – 21).

Se i campioni virali devono essere congelati, devono essere portati a -70°C.

I campioni raccolti tramite MSwab® per la ricerca di acidi nucleici, batterici o virali devono essere analizzati entro 14 giorni se conservati a temperatura ambiente (20 - 25°C), entro 21 giorni se conservati a 4°C ed entro 6 mesi se conservati a -20°C.

REAGENTI

Formulazione del terreno di trasporto MSwab®

Acqua distillata
Solvente organico
Tampone
Albumina di siero bovino

pH: 8,5 ± 0,20

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Materiali adatti all'isolamento e alla coltura di batteri gram-positivi aerobi e anaerobi facoltativi, incluse piastre o provette di coltura e sistemi di incubazione. Fare riferimento ai manuali di laboratorio per i protocolli consigliati in merito alle tecniche per la coltura e l'identificazione di batteri aerobi e anaerobi facoltativi in campioni clinici ottenuti da tampone^(2, 4). Materiali adatti all'isolamento, alla differenziazione e alla coltura di virus, incluse linee cellulari di coltura tissutale, terreno di coltura tissutale, sistemi di incubazione e apparecchiature per la lettura. Consultare i riferimenti appropriati in merito ai protocolli consigliati per l'isolamento e l'identificazione di virus^(1, 7). Materiali adatti per l'estrazione e l'amplificazione di acidi nucleici per analisi di biologia molecolare. Blocco riscaldante e centrifuga per metodi di estrazione rapida. Consultare i manuali di laboratorio di riferimento per l'identificazione e l'amplificazione di acidi nucleici in campioni clinici da tampone.

Nel caso di metodi di estrazione rapida, si consiglia di trasferire l'aliquota corretta di MSwab® (riferirsi al paragrafo **Processamento dei campioni MSwab® per analisi molecolari in laboratorio, Metodo B**) in provette Copan con biglie in vetro (codice disponibile separatamente 2E013S50).

CONSERVAZIONE DEL PRODOTTO

Il prodotto è pronto all'uso e non necessita di ulteriori preparazioni. Deve essere conservato nell'imballaggio originale a una temperatura di 5 - 25°C fino al momento dell'uso. Non surriscaldare. Non incubare o congelare prima dell'uso. In caso di conservazione errata, l'efficacia risulterà compromessa. Non utilizzare dopo la data di scadenza, chiaramente stampata sulla scatola esterna, su ogni dispositivo di prelievo singolo e sull'etichetta della provetta per il trasporto del campione.

PRELIEVO DEL CAMPIONE, CONSERVAZIONE E TRASPORTO

I campioni raccolti per analisi microbiologiche che prevedono l'isolamento di batteri o virus devono essere prelevati e manipolati secondo le linee guida e i manuali pubblicati^(7, 8, 4).

Al fine di preservare in modo ottimale la vitalità dei microrganismi e l'integrità degli acidi nucleici, trasportare i campioni raccolti mediante MSwab® direttamente al laboratorio, preferibilmente entro 2 ore dal prelievo^(1, 2, 7). In caso di ritardo nella consegna immediata o nel processamento, i campioni devono essere refrigerati a 4 - 8°C o conservati a temperatura ambiente (20 - 25°C) e processati entro 48 ore. Gli studi sulla vitalità batterica di *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 e ATCC® 6538, e di *Staphylococcus aureus* (resistente alla meticillina) ATCC® 43300 e ATCC® 700698 dimostrano che la vitalità dei microrganismi testati perdura fino a 14 giorni in condizioni di temperatura refrigerata (4 - 8°C) o per 72 ore a temperatura ambiente (20 - 25°C). Se i campioni virali devono essere congelati, devono essere portati a -70°C.

I campioni raccolti tramite MSwab® da analizzare tramite NAAT devono essere processati entro 14 giorni se conservati a temperatura ambiente (20 - 25°C), entro 21 giorni se conservati a 4°C ed entro 6 mesi se conservati a -20°C.

I test delle prestazioni con Copan MSwab® sono stati condotti utilizzando sospensioni di ceppi da laboratorio depositati sul tampone FLOQSwabs® associato al terreno. I ceppi testati includono: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (resistente alla meticillina) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, Influenza A virus ATCC® VR-822, Influenza B virus ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 e *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. I test delle prestazioni non sono stati condotti utilizzando campioni umani o matrici di origine umana.

I requisiti specifici per la spedizione e la manipolazione dei campioni devono essere pienamente conformi alle normative statali e locali^(34, 35, 36, 37). La spedizione di campioni all'interno di istituti medici deve essere conforme alle linee guida interne dell'istituto. Tutti i campioni devono essere processati non appena pervenuti in laboratorio.

MATERIALI FORNITI

Una scatola contiene cinquanta (50) unità di Copan MSwab® System e un cartone contiene 6 x 50 scatole.

Il sistema di raccolta, trasporto e conservazione Copan MSwab® è disponibile in tre diversi formati:

1. Formato kit di prelievo: ogni kit di prelievo è costituito da una confezione contenente una provetta in plastica con tappo a vite, con fondo conico, riempita con 1 ml o 3ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab®, e una busta a strappo sterile contenente un tampone FLOQSwabs® con punta floccata in fibra di nylon per il prelievo del campione (Fig. 2a).
2. Formato solo provetta: una provetta in plastica con tappo a vite, con fondo conico, riempita con 1 ml, 2 ml o 3 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab®.
3. Formato kit di prelievo con tampone di pulizia: ogni kit di prelievo è costituito da una confezione contenente una provetta in plastica con tappo a vite, con fondo conico, riempita con 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab®, nonché una busta a strappo sterile contenente un tampone FLOQSwabs® con punta floccata in fibra di nylon per il prelievo del campione (Fig. 2a) e una busta a strappo sterile contenente un tampone di pulizia con una punta larga in fibra avvolta per l'eliminazione del muco vaginale in eccesso (Fig. 2b).

Esistono due tipi di tamponi per la raccolta dei campioni: un tampone di dimensioni standard con punta floccata in nylon destinato al campionamento in siti anatomici quali: gola, vagina, ferite, retto e feci; un tampone Flexible minitip con punta floccata in nylon per prelievo nasofaringeo. Tutti i tamponi floccati forniti con MSwab® hanno un punto di rottura sull'asta del tampone, contrassegnato da una linea colorata.

Dopo la raccolta del campione dal paziente, il punto di frattura prestampato facilita la rottura dell'applicatore nella provetta contenente il terreno di trasporto MSwab®. La particolare conformazione dei tappi prensili e delle provette permette la cattura dell'asta del tampone dopo la rottura e la chiusura del tappo (vedi Fig. 1).

Avvitando il tappo sulla provetta l'estremità dell'asta viene infatti spostata nella cavità del tappo. Quando la provetta viene aperta nel laboratorio di analisi l'applicatore rimane attaccato al tappo e l'operatore può agevolmente togliere il tampone dalla provetta ed eseguire le analisi microbiologiche utilizzando il tappo come impugnatura per sostenere l'applicatore del tampone.

La funzione Tappo Prensile è garantita solo quando si usa un tampone floccato Copan di dimensioni standard.

La funzione Tappo Prensile non è applicabile al tampone pernasale (RIF. 6E013N e 6E092N01).

Fig. 1. Ancoraggio dell'asta spezzata del tampone da parte del tappo della provetta MSwab®



LIMITAZIONI

1. Le condizioni, la tempistica e il volume dei campioni raccolti per la coltura costituiscono variabili significative per l'ottenimento di risultati affidabili. Seguire le linee guida raccomandate per la raccolta dei campioni^(7, 8, 4).
2. MSwab® non può essere utilizzato come terreno di arricchimento, selettivo o differenziale.
3. Il terreno Copan MSwab® non contiene antibiotici. I campioni dei pazienti che potrebbero contenere un elevato carico di contaminanti batterici potrebbero richiedere l'aggiunta di antibiotici al terreno di mantenimento e coltura delle cellule.
4. I test delle prestazioni di Copan MSwab® sono stati effettuati utilizzando ceppi da laboratorio applicati su un tampone seguendo i protocolli di test descritti nel Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 Approved Standard⁽⁹⁾. I test delle prestazioni non sono stati condotti utilizzando campioni umani.
5. I test delle prestazioni di Copan MSwab® sono stati condotti usando i tamponi floccati Copan.
6. Adottare le precauzioni necessarie relative al rischio biologico e le tecniche di asepsi approvate. Il prodotto deve essere utilizzato unicamente da personale qualificato.

AVVERTENZE

- In laboratorio, nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Nel corso della manipolazione o dell'analisi dei campioni da paziente, rispettare il livello di biosicurezza 2 stabilito dal CDC ^(31, 32, 33, 34).
- Per uso diagnostico in vitro.
- Non sterilizzare i tamponi non utilizzati.
- Questo prodotto è esclusivamente monouso; il riutilizzo può comportare un rischio di contaminazione crociata e/o risultati inaccurati.
- Non riconfezionare.
- Prodotto non idoneo per applicazioni diverse dall'uso previsto.
- L'utilizzo di questo prodotto in associazione a kit diagnostici rapidi o strumentazione diagnostica deve essere validato dall'utilizzatore prima dell'uso.
- Non forzare, premere o piegare in modo eccessivo nella fase di raccolta dei campioni dai pazienti, poiché ciò potrebbe provocare la rottura dell'asta del tampone.
- Non utilizzare la stessa provetta per più di un paziente. Questo causa diagnosi non corrette. Prima del trasposto, assicurarsi che il tappo di MSwab® sia saldamente avvitato.
- Non piegare il tampone di prelievo prima dell'uso.
- Non utilizzare il terreno MSwab® per pre-inumidire o pre-bagnare l'applicatore del tampone prima del prelievo del campione o per inumidire i siti di campionamento.
- Evitare il contatto del terreno MSwab® con la pelle e le mucose. In caso di contatto, risciacquare con abbondante acqua.
- Non ingerire il terreno di trasporto.
- Seguire scrupolosamente le istruzioni per l'uso.
- La manipolazione del prodotto deve essere effettuata esclusivamente da personale addestrato.
- Osservare le precauzioni di rischio approvate e adottare tecniche asettiche.
- Il congelamento e lo scongelamento ripetuto dei campioni può ridurre il recupero di organismi vitali ^(8,35).
- Le condizioni, le tempistiche e il volume del campione raccolto per la coltura sono variabili significative per l'ottenimento di risultati affidabili per la coltura. Seguire le linee guida raccomandate per il prelievo dei campioni.
- Si deve sempre presumere che tutti i campioni contengano microrganismi infetti, quindi si raccomanda la massima cautela. Dopo l'uso smaltire le provette ed i tamponi in conformità con la prassi di laboratorio relativa ai rifiuti infetti. Rispettare il livello di biosicurezza 2 stabilito dal CDC ^(31, 32, 33, 34). Eliminare i reagenti non utilizzati, i rifiuti ed i campioni secondo la regolamentazione locale.
- Non utilizzare Copan MSwab® se (1) vi sono segni evidenti di danneggiamento del prodotto (ad es. rottura della punta o dell'asta del tampone), (2) vi sono perdite evidenti, (3) la data di scadenza è stata superata, (4) la confezione del tampone è aperta, (5) vi sono altri segni di deterioramento.
- A causa della geometria del tampone Flexible minitip, il tampone potrebbe attorcigliarsi quando inserito nella provetta, pertanto, nel caso fosse necessario rimuovere il tampone dalla provetta, prestare attenzione ed osservare adeguate precauzioni di rischio biologico in modo da proteggere l'operatore e l'ambiente da eventuali schizzi.
- 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.

ISTRUZIONI PER L'USO

Copan MSwab® è pronto all'uso e non necessita di ulteriori preparazioni. È disponibile nelle diverse configurazioni riportate nella Tabella 1.

RIF.	Descrizione dei prodotti Copan MSwab®	Confezione
6E012N	Confezione per raccolta di campioni contenente: - Provetta 12 x 80 mm con tappo a vite contenente 1 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab®. - Un tampone FLOQSwabs® di dimensioni standard con punta floccata in nylon, sterile e confezionato singolarmente.	50 unità/scatola da 6x50 unità/cartone
6E013N	Confezione per raccolta di campioni contenente: - 1 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab® in provetta 12 x 80 mm con tappo a vite. - Un tampone Flexible minitip con punta floccata in nylon, sterile e confezionato singolarmente	50 unità/scatola da 6x50 unità/cartone
6E092N01	Confezione per raccolta di campioni contenente: - 3 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab® in provetta 16 x 100 mm con fondo sferico. - Un tampone Flexible minitip con punta floccata in nylon, sterile e confezionato singolarmente	50 unità/scatola da 6x50 unità/cartone
6E011N	Provetta singola per trasporto e conservazione: - 1 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab® in provetta 12 x 80 mm con fondo conico e tappo a vite.	50 unità/scatola da 6x50 unità/cartone
6U019N	Provetta singola per trasporto e conservazione: - 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab® in provetta 12 x 80 mm con fondo conico e tappo a vite.	50 unità/scatola da 6x50 unità/cartone
6E076N	Provetta singola per trasporto e conservazione: - 3 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab® in provetta 12 x 80 mm con fondo conico e tappo a vite.	50 unità/scatola da 6x50 unità/cartone

6E028N.MER	Confezione monouso per raccolta di campioni contenente: - 2 ml di terreno di trasporto e conservazione MSwab® in provetta 12 x 80 mm con tappo a vite. - Un tampone FLOQSwabs® di dimensioni standard con punta floccata in nylon, sterile e confezionato singolarmente. - Un tampone di pulizia in rayon a punta larga, sterile e confezionato singolarmente.	50 unità/scatola da 6x50 unità/cartone
------------	---	--

Tabella 1

Raccolta dei campioni

La corretta raccolta dei campioni dal paziente è estremamente importante perché l'isolamento e l'identificazione degli organismi infettanti avvengono con successo. Per istruzioni più dettagliate sulle procedure di raccolta dei campioni consultare i manuali di riferimento pubblicati in materia. ^(7, 2)

Per i codici MSwab® 6E012N, 6E013N e 6E092N01:

1. Aprire la confezione del kit MSwab®, estrarre la provetta di terreno e la busta interna contenente il tampone sterile.
2. Estrarre il tampone sterile dalla relativa busta (vedi Figura 2) e prelevare il campione clinico. L'operatore deve toccare l'applicatore del tampone solo al di sopra della linea di rottura colorata (come illustrato nella Figura 2) che è all'estremità opposta della punta in nylon floccata. L'operatore non deve mai toccare, nel corso della manipolazione del tampone, la zona al di sotto della linea di rottura (la zona che va dalla linea fino alla punta floccata in nylon del tampone) dal momento che ciò provocherebbe la contaminazione dell'asta dell'applicatore e della coltura successiva; per evitare il rischio di contaminazione accertarsi che la punta del tampone entri in contatto solo con il sito di prelievo.
3. Prelevare il campione dal paziente.
4. Svitare e togliere il tappo dalla provetta MSwab® assicurandosi di non far fuoriuscire il terreno di trasporto.
5. Dopo aver prelevato il campione inserire il tampone nella provetta finché il punto di rottura si troverà a livello dell'apertura della provetta. Piegare l'asta del tampone con un angolo di 180 gradi per romperla nel punto di rottura contrassegnato in rosso. Se necessario, ruotare delicatamente l'asta del tampone per completare la rottura e rimuovere la parte superiore dell'asta del tampone (Figura 2).
6. Smaltire la parte rotta dell'asta del tampone in un contenitore per rifiuti medici approvato.
7. Rimettere il tappo sulla provetta e richiudere bene.
8. Scrivere il nome e i dati del paziente sull'etichetta della provetta o applicare l'etichetta identificativa del paziente.
9. Inviare il campione al laboratorio.

Per il codice MSwab® 6E028N.MER:

1. Aprire la confezione del kit, rimuovere la provetta di terreno di trasporto e le due buste interne, una contenente il tampone sterile e una contenente il tampone di pulizia "Cleaning Swab".
2. L'utilizzo del tampone di pulizia è consigliato solo in caso di procedura di raccolta di campione endocervicale. Il tampone di pulizia (tampone con punta larga in fibra, vedere la Figura 2.b), è utilizzato solo per rimuovere l'eccesso di muco presente a livello dell'apertura della cervice uterina e le mucose circostanti. **Dopo l'utilizzo, smaltire il tampone in un contenitore per rifiuti sanitari approvato.** In caso di procedure di raccolta di campioni diversi da campioni endocervicali, il tampone di pulizia non deve essere utilizzato e deve essere smaltito.
3. Per il prelievo di campioni clinici seguire le istruzioni riportate per i codici 6E012N, 6E013N e 6E092N01 dal punto 2 in poi.

Per i codici MSwab® 6E011N, 6U019N e 6E076N:

1. Dopo aver prelevato il campione dal paziente tramite un tampone, svitare e togliere il tappo dalla provetta MSwab® assicurandosi di non far fuoriuscire il terreno di trasporto.
2. Inserire il tampone nella provetta.
3. Se il tampone presenta un punto di rottura, piegare e rompere il tampone in corrispondenza del punto di rottura avendo cura di tenere la provetta lontana dal viso.
4. Rimettere il tappo sulla provetta e richiudere bene.
5. Scrivere il nome e i dati del paziente sull'etichetta della provetta o applicare l'etichetta identificativa del paziente.
6. Inviare il campione al laboratorio.

Fig. 2. Tampone di prelievo con la linea di indicazione del punto di rottura e zona per la manipolazione dell'applicatore

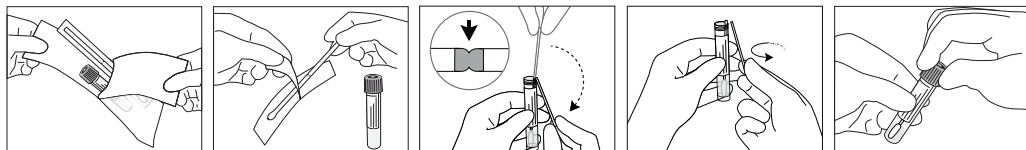


Fig. 2.a TAMPONE DI PRELIEVO

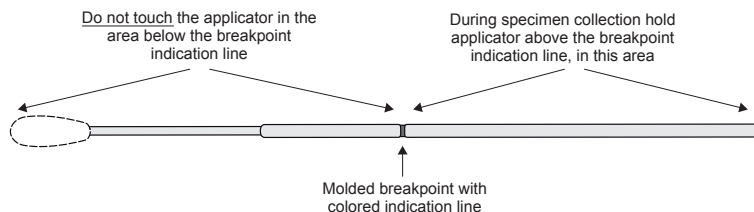


Fig. 2.b TAMPONE DI PULIZIA



Processamento dei campioni MSwab® in laboratorio – Batteriologia

I campioni MSwab® devono essere processati per coltura batteriologica utilizzando i terreni di coltura idonei e tecniche di laboratorio raccomandate, che dipendono dalla tipologia di campione e dall'organismo da analizzare. Per i terreni e le tecniche di coltura consigliati per l'isolamento e l'identificazione di batteri provenienti dai campioni clinici da tamponare, fare riferimento alle linee guida e ai manuali di microbiologia pubblicati⁽¹⁻⁶⁾. Le analisi sulle colture di campioni da tamponi per la ricerca di batteri prevedono l'uso di routine di terreno di coltura agar solido in piastre di Petri. La procedura di inoculazione dei campioni MSwab® su agar solido in piastre di Petri è la seguente.

Nota: nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Osservare le altre raccomandazioni relative al Livello 2 di biosicurezza emesse dal CDC^(31, 32, 33, 34).

Formato Kit di Prelievo (con o senza tampone di pulizia)

Vortexare la provetta MSwab® contenente il campione prelevato con il tampone per 5 secondi per disperdere e sospendere in modo uniforme nel terreno di trasporto il campione.

1. Svitare il tappo MSwab® ed estrarre il tampone.
2. Utilizzare il tampone per effettuare l'inoculo primario in un quadrante di una piastra di coltura, facendo ruotare la punta del tampone MSwab® sulla superficie del terreno di coltura.
3. Qualora sia necessario coltivare il campione in una seconda piastra con terreno di coltura, reinserire il tampone MSwab® nella provetta contenente il terreno di trasporto e attendere due secondi in modo tale che la punta del tampone assorba e venga rivestita dalla sospensione di terreno di trasporto e campione del paziente, quindi ripetere il punto 3.
4. Qualora sia necessario inoculare altre piastre con terreno di coltura, prima di procedere all'inoculazione, reinserire il tampone MSwab® nella provetta contenente il terreno di trasporto e ricaricare la punta dell'applicatore con la sospensione di terreno di trasporto e campione del paziente.

La procedura sopra descritta utilizza il tampone presente nel kit MSwab® per trasferire la sospensione del campione del paziente nel terreno di trasporto fino alla superficie della piastra di coltura, creando l'inoculo primario (vedi Fig. 3).

In alternativa, l'operatore può vortexare la provetta MSwab® con il tampone al suo interno per 5 secondi, e poi trasferire 100 µl di sospensione sulle singole piastre di coltura tramite una pipetta volumetrica con puntali sterili. Per strisciare l'inoculo primario del campione del paziente sulla superficie della piastra di coltura seguire le procedure standard di laboratorio (vedi Fig. 4).

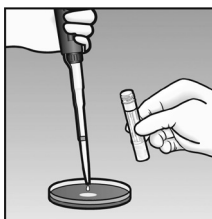
Formato solo provetta:

Vortexare la provetta MSwab® contenente il campione per 5 secondi e disperdere e sospendere uniformemente il campione del paziente nel terreno di trasporto. Trasferire un minimo di 100µl di sospensione sulle singole piastre di coltura tramite una pipetta volumetrica con puntali sterili. Per strisciare l'inoculo primario del campione del paziente sulla superficie della piastra di coltura seguire le procedure standard di laboratorio (vedi Fig. 4).

Fig. 3. Procedure di inoculazione dei campioni MSwab® su agar solido in piastre di Petri



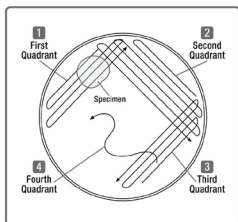
1. Utilizzare il tampone per inoculare il campione.



2. Utilizzare un pipettatore e puntali per pipette sterili per inoculare un minimo di 100 µl di campione.

Questa procedura di inoculazione deve essere considerata preferibile se il campione clinico deve essere sottoposto anche ad analisi con tecniche NAAT.

Fig. 4 - Procedura per strisciare i campioni MSwab® su piastre di Petri per l'isolamento primario⁽³³⁾



Effettuare un inoculo primario di campione MSwab® sulla superficie di una piastra di coltura idonea su agar nel primo quadrante.

Con un'ansa da inoculo sterile, strisciare l'inoculo primario sulla superficie del secondo, terzo e quarto quadrante della piastra di coltura agar.

Preparazione di strisci con colorazione di Gram di campioni MSwab®

L'analisi di laboratorio dei campioni su tamponi clinici raccolti da alcune parti anatomiche del paziente può includere di routine l'esame microscopico di preparazioni colorate ("strisci diretti") con l'uso della procedura della colorazione di Gram. Ciò può fornire informazioni di grande valore per i medici che trattano pazienti con malattie infettive⁽²²⁾. Sono molti i casi in cui una colorazione di Gram può essere d'aiuto nell'effettuare una diagnosi^(23, 27). La colorazione di Gram può anche contribuire a valutare la qualità dei campioni e contribuire alla selezione dei terreni di coltura, in particolare in caso di flora mista.

I vetrini da microscopio dei campioni paziente trasportati nel sistema di trasporto Copan MSwab® possono essere preparati per l'analisi della colorazione di Gram, come descritto più oltre, campionando un'aliquota della sospensione vortexata del tampone^(3, 4). I campioni trasportati con il terreno di eluizione MSwab® presentano una sospensione omogenea in fase liquida. Possono essere strisciati in modo uniforme, cosa che permette una lettura chiara e semplice.

Nota: nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Osservare le altre raccomandazioni relative al Livello 2 di biosicurezza emesse dal CDC^(31, 32, 33, 34).

1. Prendere un vetrino da microscopio pulito, posizionarlo su una superficie piana e contrassegnare un'area usando una penna con punta diamantata o una penna vetrografica simile per identificare la posizione dell'inoculo del campione. Nota: si può utilizzare anche un vetrino con pozzetto premarcato da 20 mm.
2. Vortexare la provetta MSwab® contenente il campione per 5 secondi per rilasciare il campione dalla punta del tampone e per disperdere e sospendere in modo uniforme nel terreno di coltura il campione paziente.
3. Svitare il tappo MSwab® e, usando una pipetta sterile, trasferire 1 – 2 gocce di sospensione del campione nell'area contrassegnata del vetrino. Nota: 30 µl circa costituiscono una quantità di liquido adeguata ad un pozzetto di 20 mm di diametro premarcato.

In caso di campioni densi o contenenti sangue, deve essere adottata una cura particolare per spandere finemente il campione sul vetrino. I batteri sono difficili da rilevare se il campione presenta molti globuli rossi e detriti.

4. Attendere che il campione sul vetrino asciughi all'aria a temperatura ambiente, o porre il vetrino in un riscaldatore elettrico o in un incubatore per vetrini a temperatura non superiore a 42°C.
5. Fissare gli strisci con metanolo. Il fissaggio con metanolo è raccomandato in quanto previene la lisi dei globuli rossi, evita che tutte le cellule ospiti si danneggino e dà come risultato uno sfondo più pulito^(3, 4, 22).
6. Per effettuare la colorazione di Gram seguire le linee guida e i manuali di laboratorio di riferimento pubblicati. Nel caso di utilizzo di reagenti per la colorazione di Gram è importante seguire le istruzioni riportate nel foglio illustrativo fornito dal produttore per la procedura di test delle prestazioni.

Per ulteriori informazioni o guida nella preparazione dei vetrini dei campioni per l'analisi al microscopio, per informazioni sulle procedure di colorazione di Gram e per l'interpretazione e la refertazione delle analisi al microscopio, consultare i manuali di laboratorio di riferimento pubblicati^(1-5, 22-27).

Processamento dei campioni MSwab® in laboratorio – Virologia

La sopravvivenza di HSV 1 e di HSV 2 dipende da molti fattori, tra cui il tipo e la concentrazione del microrganismo, la durata del trasporto e la temperatura di conservazione. Al fine di mantenere la vitalità ottimale, i campioni devono essere trasportati direttamente al laboratorio, preferibilmente entro 2 ore dalla raccolta^(1, 2, 7, 29). Se la consegna o l'analisi immediate vengono ritardate, i campioni raccolti con l'uso del Sistema di raccolta, trasporto e conservazione MSwab® devono essere refrigerati a 4–8°C o conservati a temperatura ambiente (20 – 25°C) e processati entro 48 ore. Se i campioni devono essere congelati, devono essere portati a -70°C.

Negli studi di simulazione di trasporto e conservazione, il Sistema Copan MSwab® ha dimostrato di essere in grado di mantenere la vitalità di HSV 1 e di HSV 2 in condizioni di temperatura refrigerata (4-8°C) e a temperatura ambiente (20-25°C) fino a 48 ore. Sulla base degli studi sulle prestazioni effettuati da Copan e di pubblicazioni scientifiche indipendenti, la vitalità di alcuni microrganismi è superiore a temperatura refrigerata che a temperatura ambiente^(12-21, 29).

I campioni MSwab® devono essere processati ai fini della coltura virologica utilizzando le linee cellulari e le tecniche di laboratorio raccomandate, che dipendono dal tipo di campione e dal microrganismo sottoposto ad analisi. Per le shell vial e le tecniche raccomandate per l'isolamento e l'identificazione di HSV 1 e HSV 2 dai campioni da tamponi clinici, fare riferimento alle linee guida e ai manuali di virologia pubblicati^(1-6, 29, 30).

Le analisi delle colture di campioni da tamponi per la presenza di HSV 1 e HSV 2 prevedono di routine l'uso di colture cellulari in shell vial. La procedura di inoculazione dei campioni MSwab® nelle shell vial è descritta di seguito.

NOTA: nel corso della manipolazione di campioni clinici, indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Osservare le altre raccomandazioni di BSL 2.

Formato Kit di Prelievo:

1. Vortexare la provetta MSwab® contenente il campione per 5 secondi per rilasciare il campione dalla punta del tampone e per disperdere e sospendere in modo uniforme nel terreno di trasporto liquido il campione paziente.
2. Svitare il tappo MSwab® ed estrarre il tampone.
3. Trasferire un volume di 200 µl della sospensione nella shell vial e procedere seguendo la procedura interna del laboratorio.
NOTA: I campioni di pazienti che possono contenere un'elevata carica batterica possono richiedere l'aggiunta di antibiotici nel terreno di refeed.
4. Procedere con le tecniche appropriate di rilevamento dei virus.

Formato solo provetta:

1. Vortexare la provetta MSwab® contenente il campione per 5 secondi.
2. Svitare il tappo MSwab® e Trasferire un volume di 200 µl della sospensione nella shell vial e procedere seguendo la procedura interna del laboratorio.
NOTA: I campioni di pazienti che possono contenere un'elevata carica batterica possono richiedere l'aggiunta di antibiotici nel terreno di refeed.
3. Procedere con le tecniche appropriate di rilevamento dei virus.

Processamento dei campioni MSwab® per analisi molecolari in laboratorio

Per i campioni sui quali è prevista la ricerca di acidi nucleici si consiglia l'analisi immediata dopo l'arrivo nel laboratorio. In caso di ritardo fare riferimento alle relative condizioni di conservazione.

NOTA: per la manipolazione dei campioni clinici utilizzare guanti in lattice ed altri mezzi di protezione generale. Rispettare il livello di biosicurezza (BSL) 2 stabilito dal CDC^(31, 32, 33, 34).

Nell'utilizzo di metodi molecolari prendere le precauzioni necessarie atte ad evitare il diffondersi della contaminazione. La separazione degli spazi di lavoro e un flusso di lavoro unidirezionale sono fondamentali per prevenire la contaminazione dell'amplicone⁽³⁵⁾.

La formulazione del terreno MSwab® è stata sviluppata per essere compatibile con PCR Master Mix; questo rende MSwab® idoneo per applicazioni dirette di amplificazione di acidi nucleici (NAAT) senza la necessità di un passaggio di estrazione standard e di purificazione.

Due metodiche differenti (A e B) possono essere applicate per il processamento dei campioni MSwab®:

A) Metodo di estrazione standard

1. Miscelare la provetta MSwab® in un vortex per 10 secondi
2. Svitare il tappo (NOTA: per il formato solo provetta andare al punto 4) e, tenendolo tra il pollice e l'indice, farlo ruotare per estrarre la maggior parte del fluido dalla punta.
3. Smaltire il tampone.
4. Trasferire il quantitativo adeguato di campione (es. 200 µl) in una provetta di estrazione seguendo le normali procedure di laboratorio. Per il codice 6E013N e 6E092N01 per il quale non è disponibile la funzione Tappo Prensile, è consigliato l'utilizzo di pinzette per l'estrazione dell'applicatore dalla provetta. Prestare attenzione ed osservare adeguate precauzioni di rischio biologico in modo da proteggere l'operatore e l'ambiente da eventuali schizzi.
5. Proseguire secondo le procedure di estrazione e amplificazione dei kit utilizzati.

Il sistema MSwab® è stato validato con i seguenti metodi di estrazione: membrana di gel-silice (Qiagen, Macherey & Nagel) e biglie magnetiche (EasyMAG, Qiasymphony, Magpure). Altri metodi di estrazione sono applicabili previa validazione da parte dell'utilizzatore finale.

B) Metodo di estrazione rapida

Per la ricerca di contaminazioni virali, si consiglia un passaggio di shock termico per lisare i campioni.

1. Vortexare la provetta originale del campione MSwab® per 10 secondi.
2. Utilizzando una micropipetta, trasferire 200 µl del campione MSwab® in una microprovetta sterile contenente biglie di vetro (2E013S50: provetta Copan con biglie di vetro, disponibile separatamente) e vortexare per 10 secondi. Conservare il campione di MSwab® originale per coltura o test aggiuntivi.
3. Riscaldare la microprovetta in un termostato impostato a 98-100°C per almeno:
 - 3 minuti per i VIRUS
 - 10 minuti per BATTERI GRAM POSITIVI
 - 5 minuti per BATTERI GRAM NEGATIVI
4. Raffreddare la provetta a temperatura ambiente per 5 minuti
5. Centrifugare la microprovetta a 10000xg per 2 minuti per sedimentare i detriti cellulari.
6. Trasferire un'aliquota del campione MSwab® processato nella master mix e procedere con il passaggio di amplificazione secondo la procedura del kit di amplificazione.

Il metodo di estrazione rapida descritto sopra è stato testato con R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kit, con Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit e con Genesis Real Time PCR kit di Primer Design a confronto con metodi di estrazione standard. Altri kit di amplificazione PCR possono essere applicabili previa validazione da parte dell'utilizzatore finale. I ceppi testati includono: B. pertussis (ATCC® 8467), S. aureus (resistente alla meticillina) (ATCC® 43300), E. coli O157-H7 (ATCC® 700728), S. tiphimurium (ATCC® 14028), C. difficile (ATCC® 9689), Influenza A virus (ATCC® VR-822), Influenza B virus (ATCC® VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC® 43069) e Chlamydia trachomatis (ATCC® VR880). I test non sono stati condotti utilizzando matrici di origine umana. I risultati ottenuti dipendono in gran parte dal prelievo corretto e adeguato del campione, come pure dalla tempestività con cui si eseguono il trasporto e le analisi in laboratorio.

CONTROLLO QUALITÀ

I tamponi MSwab® sono testati per garantire che siano atossici per i batteri. Il terreno e gli applicatori Copan MSwab® sono testati per garantire che siano atossici per le linee cellulari usate per la coltura di HSV 1 e di HSV 2. Il terreno di trasporto MSwab® è testato per la stabilità del pH e per l'assenza di inibitori con amplificazione diretta degli acidi nucleici⁽⁹⁾. MSwab® è sottoposto a test di controllo qualità prima della commercializzazione per la sua capacità di mantenere la vitalità di batteri aerobi Gram-positivi e anaerobi facoltativi e dei virus HSV a temperatura ambiente (20 – 25°C) per periodi di tempo specifici. Le procedure di controllo qualità dei dispositivi di trasporto di campioni microbiologici devono essere effettuate secondo i metodi di analisi descritti dal Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 e da altre pubblicazioni⁽⁹⁾. Nel caso in cui vengano notati dei risultati di controllo qualità anomali, i risultati del paziente non devono essere refertati.

RISULTATI

I risultati ottenuti dipendono in gran parte dalla raccolta corretta e adeguata del campione, nonché dal tempestivo trasporto e corretto processamento in laboratorio.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Recupero dei batteri

Le procedure di analisi impiegate per determinare le prestazioni relative alla vitalità batterica sono state basate sui metodi di controllo qualità descritte nel testo Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2⁽⁹⁾.

Il sistema MSwab® è destinato unicamente alla ricerca di batteri Gram-positivi aerobi e anaerobi facoltativi e dei virus HSV1 e HSV2, quindi le sue applicazioni sul campo sono più limitate rispetto ad alcuni altri dispositivi. Per questo motivo, gli studi sul recupero di batteri sono stati effettuati nelle condizioni di trasporto e conservazione simulate così come descritte e definite in CLSI M40-A2, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard, e in essi sono stati inclusi i ceppi di batteri aerobi e anaerobi facoltativi Gram positivi del Gruppo 1 di cui al paragrafo 7.11.1 del documento CLSI M40-A2, in particolare:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Inoltre, Copan ha incluso il test di ulteriori microrganismi aerobi e anaerobi facoltativi Gram positivi di rilevanza clinica non richiesti da CLSI M40-A2. Gli specifici ceppi batterici utilizzati nell'ambito di tali studi sono i seguenti:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Strep di gruppo B)	ATCC® 13813
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (resistente alla meticillina)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (resistente alla meticillina)	ATCC® 700698

Tutte le colture batteriche erano ATCC® (American Type Culture Collection) e sono state acquistate in commercio.

La selezione di tali microrganismi riflette anche quei batteri aerobi e anaerobi facoltativi Gram positivi che normalmente si troverebbero sui campioni raccolti e analizzati in un tipico laboratorio di microbiologia clinica.

Gli studi sulla vitalità batterica sono stati effettuati sul Copan MSwab® a due diversi intervalli di temperatura, 4 – 8°C e 20 – 25°C, corrispondenti rispettivamente alla temperatura refrigerata e alla temperatura ambiente. I tamponi che accompagnano ciascun sistema di trasporto sono stati inoculati in triplicato con 100 µl di sospensione microbica a concentrazioni specifiche. I tamponi sono stati quindi posti nelle rispettive provette contenenti il terreno di trasporto e conservati per 0 ore, 24 ore e 48 ore. Agli intervalli temporali definiti, ciascun tampone è stato processato utilizzando il metodo "Roll-Plate" o il metodo "Swab Elution".

Ulteriori studi sulla vitalità batterica di Staphylococcus aureus, ATCC® 29213 e ATCC® 6538, e di Staphylococcus aureus (resistente alla meticillina), ATCC® 43300 e ATCC® 700698, sono stati effettuati sul Copan MSwab® a due diversi intervalli di temperatura, 4 – 8°C e 20 – 25°C, corrispondenti rispettivamente alla temperatura refrigerata e alla temperatura ambiente.

I tamponi che accompagnano ciascun sistema di trasporto sono stati inoculati in triplicato con 100 µl di sospensione microbica a concentrazioni specifiche. I tamponi sono stati quindi posti nelle rispettive provette contenenti il terreno di trasporto e: per gli studi effettuati a 4 – 8°C, le provette MSwab® inoculate sono state conservate per 0 ore, 10 giorni e 14 giorni. Agli intervalli temporali definiti, ciascun MSwab® è stato processato utilizzando il metodo "Roll-Plate".

Per gli studi effettuati a 20 – 25°C, le provette MSwab® inoculate sono state conservate per 0 ore e 72 ore. Agli intervalli temporali definiti, ciascun MSwab® è stato processato utilizzando il metodo "Roll-Plate".

Gli studi per valutare la sovraccrescita batterica sono stati effettuati sul Copan MSwab® all'intervallo di temperatura 4 – 8°C, corrispondente alla temperatura refrigerata. I tamponi che accompagnano ciascun sistema di trasporto sono stati inoculati in triplicato con 100 µl di sospensione microbica a concentrazioni specifiche. I tamponi sono stati quindi posti nelle rispettive provette contenenti il terreno di trasporto e conservati per 0 ore e 48 ore. Agli intervalli temporali definiti, ciascun tampone è stato processato utilizzando il metodo "Roll-Plate".

Gli studi sulla sovraccrescita batterica sono stati effettuati con l'uso di Pseudomonas aeruginosa.

Gli studi sulla infettività virale sono stati effettuati con l'uso di HSV 1 e HSV 2. I tamponi che accompagnano ciascun sistema di trasporto sono stati inoculati in triplicato con 100 µl di sospensione virale a concentrazioni specifiche. I tamponi sono stati quindi posti nelle rispettive provette contenenti il terreno di trasporto e conservati per 0, 24 e 48 ore sia a 4°C che a temperatura ambiente (20-25°C). Agli intervalli temporali definiti, ciascun tampone è stato vortexato, estratto dalla provetta contenente il terreno di trasporto e quindi un'aliquota di 200 µl di questa sospensione è stata trasferita in shell vial. Tutte le colture sono state processate con tecniche standard di coltura in laboratorio ed esaminate dopo un periodo di incubazione specifico. L'infettività virale è stata determinata mediante rilevamento dei focolai fluorescenti.

Sono stati sottoposti a valutazione i seguenti ceppi virali:

Virus Herpes simplex tipo 1 (HSV 1)	ATCC® VR-539
Virus Herpes simplex tipo 2 (HSV 2)	ATCC® VR-734.

Conformemente al Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2, le prestazioni relative alla vitalità vengono misurate per ciascun virus sottoposto a test al punto temporale a 48 e comparate con il criterio di accettazione.

Negli studi sulle prestazioni della vitalità, sia utilizzando il metodo "Roll-Plate" che il metodo "Swab Elution", Copan MSwab® System è stato in grado di mantenere un recupero accettabile di tutti i microorganismi valutati sia a temperatura refrigerata (4 – 8°C) che a temperatura ambiente (20 – 25°C). Il recupero accettabile per il metodo "Roll-Plate" è definito come ≥ 5 UFC dopo il tempo di conservazione specificato, partendo dalla diluizione specifica che abbia fornito una conta in piastra al tempo zero non superiore a 300 UFC. Il recupero accettabile per il metodo "Swab Elution" è definito come una diminuzione non superiore a $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) delle UFC tra le conte di UFC del tempo zero e le UFC dei tamponi dopo il tempo di conservazione specificato.

Ulteriori intervalli temporali sono stati testati per *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 e ATCC® 6538, e per *Staphylococcus aureus* (resistente alla meticillina), ATCC® 43300 e ATCC® 700698.

Negli studi sulle prestazioni della vitalità condotti con il metodo "Roll-Plate", Copan MSwab® System è stato in grado di mantenere un recupero accettabile di tutti i microorganismi valutati sia a temperatura refrigerata (4 – 8°C) per 14 giorni che a temperatura ambiente (20 – 25°C) per 72 ore. Il recupero accettabile per il metodo "Roll-Plate" è definito come ≥ 5 UFC dopo il tempo di conservazione specificato, partendo dalla diluizione specifica che abbia fornito una conta in piastra al tempo zero non superiore a 300 UFC.

Nell'ambito degli studi sulle prestazioni della vitalità è stata valutata anche la sovracrescita batterica a temperatura refrigerata (4 – 8°C). Per il metodo "Swab Elution", la valutazione della sovracrescita viene effettuata su tutti i ceppi batterici testati dopo 48 ore di conservazione. La sovracrescita valutata con il metodo "Swab Elution" è definita come un incremento maggiore di $1 \log_{10}$ delle UFC tra il tempo zero della conta delle UFC e il tempo di conservazione. Per il metodo "Roll-plate", la valutazione della sovracrescita viene effettuata mediante un'analisi separata in cui i tamponi vengono dosati con 100 μ l contenenti 10^2 UFC di coltura di *Pseudomonas aeruginosa*. La sovracrescita in queste condizioni è definita come un incremento maggiore di $1 \log_{10}$ delle UFC tra il tempo zero della conta delle UFC e il tempo di conservazione di 48 ore.

Copan MSwab® System non ha evidenziato alcuna sovracrescita in base ai criteri di accettazione descritti nel documento Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2.

Copan MSwab® System è stato in grado di preservare l'infettività dei seguenti virus per almeno 48 ore sia a temperatura ambiente (20-25°C) che in frigorifero (2-8°C) nelle condizioni di test descritte sopra: Virus Herpes Simplex Virus di tipo 1, Virus Herpes Simplex di tipo 2.

Preservazione degli acidi nucleici

I campioni raccolti utilizzando MSwab® da analizzare con tecniche di amplificazione degli acidi nucleici devono essere processati entro 14 giorni dal campionamento, se conservati a temperatura ambiente (20-25°C), entro 21 giorni se conservati a 4°C ed entro 6 mesi se conservati a -20°C.

I test delle prestazioni con Copan MSwab® sono stati effettuati utilizzando sospensioni di ceppi da laboratorio applicati ai tamponi FLOQSwabs® in associazione al terreno. I ceppi testati includono: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (resistente alla meticillina) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, *Influenza A virus* ATCC® VR-822, *Influenza B virus* ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 e *C. trachomatis* ATCC® VR880. I test delle prestazioni non sono stati condotti utilizzando campioni umani e/o matrici di origine umana.

I risultati ottenuti dipendono principalmente dalla corretta e adeguata raccolta dei campioni, così come dalla tempestività del trasporto e del processamento in laboratorio.

TABELLA DEI SIMBOLI

Vedere la tabella dei simboli in fondo alle istruzioni per l'uso.

Sistema de recogida, transporte y conservación Copan MSwab® para aplicaciones moleculares y de cultivo

Instrucciones de uso

USO PREVISTO

El sistema MSwab® se utiliza para la recogida, el transporte y la conservación de muestras clínicas desde el sitio de recogida hasta el laboratorio de análisis. En el laboratorio, las muestras recogidas en el sistema MSwab® se pueden analizar con procedimientos clínicos estándar para:

- el cultivo bacteriano de microorganismos Gram-positivos aerobios y anaerobios facultativos;
- el cultivo viral de virus VHS-1 y VHS-2;
- la detección de ácidos nucleicos de bacterias y virus.

INTRODUCCIÓN Y PRINCIPIOS

Uno de los procedimientos rutinarios para el diagnóstico de las infecciones bacterianas implica la recogida y el transporte en condiciones seguras de las muestras obtenidas en hisopos. Esto se consigue mediante el sistema de recogida, transporte y conservación Copan MSwab®. El medio ha sido diseñado para mantener la viabilidad de las bacterias Gram-positivas aerobias y anaerobias facultativas, y de los virus VHS-1 y VHS-2 durante el transporte hasta el laboratorio de análisis.

Además, Copan MSwab® permite conservar ácidos nucleicos de agentes patógenos para ser identificados mediante técnicas de amplificación molecular (NAAT).

El sistema de recogida, transporte y conservación Copan MSwab® se suministra en tres formatos distintos:

- a) Formato kit de recogida. Cada kit de recogida consta de un paquete que contiene un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca de plástico, con 1 o 3 ml de medio de transporte y conservación MSwab®, más una bolsita de apertura fácil estéril que contiene un hisopo FLOQSwabs® para recogida de muestras con una punta flocada con fibra de nylon.
- b) Formato solo probeta. Un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca de plástico, con 1 ml, 2 ml o 3 ml de medio de transporte y conservación MSwab®.
- c) Formato kit de recogida con un hisopo de limpieza. Cada kit de recogida consta de un paquete que contiene un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca de plástico, con 2 ml de medio de transporte y conservación MSwab®, más una bolsita de apertura fácil estéril que contiene un hisopo FLOQSwabs® para recogida de muestras con una punta flocada con fibra de nylon y una bolsita de apertura fácil estéril que contiene un hisopo de limpieza con una punta grande recubierta de fibra para retirar el exceso de moco vaginal.

Una vez recogida la muestra con el hisopo, este debe introducirse inmediatamente en la probeta MSwab® que contiene el medio de transporte y conservación. Las muestras obtenidas mediante MSwab® para analizar con técnicas de cultivo bacteriano o viral se deben transportar directamente al laboratorio, preferiblemente antes de 2 horas desde su recogida^(1, 2, 7) para mantener óptima la viabilidad de los microorganismos. Si se retrasa la entrega de las muestras al laboratorio o el análisis no se realiza de inmediato, las muestras pueden refrigerarse a 4-8°C o conservarse a temperatura ambiente (20-25°C) y analizarse antes de 48 horas desde su recogida. Los estudios sobre la viabilidad bacteriana de *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 y ATCC® 6538, y *Staphylococcus aureus* (resistente a la meticilina), ATCC® 43300 y ATCC® 700698, muestran que la viabilidad de los microorganismos analizados se mantiene hasta 14 días en un entorno refrigerado (4-8°C) o 72 horas a temperatura ambiente (20-25°C). Estudios científicos independientes sobre los sistemas de transporte de hisopos han demostrado que la viabilidad de determinadas bacterias es mayor cuando están refrigeradas que cuando se mantienen a temperatura ambiente⁽¹²⁻²¹⁾. Si se deben congelar las muestras virales, deberá hacerse a -70°C.

Las muestras recogidas mediante MSwab® para la detección de ácidos nucleicos virales o bacterianos deben analizarse en un plazo de 14 días si se conservan a temperatura ambiente (20-25°C), en un plazo de 21 días si se conservan a 4°C y en un plazo de 6 meses si se conservan a -20°C.

REACTIVOS

Formulación del medio de transporte MSwab®

Agua destilada

Disolvente orgánico

Tampón

Albumina de suero bovino

pH: 8,5 ± 0,20

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Materiales adecuados para el aislamiento y el cultivo de bacterias Gram-positivas aerobias y anaerobias facultativas.

Dichos materiales incluyen placas de cultivo o probetas, y sistemas de incubación. Para los protocolos recomendados sobre las técnicas de cultivo y la identificación de bacterias aerobias y anaerobias facultativas de los hisopos para muestras clínicas se remite a los manuales de laboratorio^(2, 4). Materiales adecuados para el aislamiento, la diferenciación y el cultivo de virus. Estos materiales incluyen líneas celulares para el cultivo de tejidos, medio de cultivo para tejidos, sistemas de incubación e instrumentos de lectura. Consultar las referencias correspondientes para los protocolos recomendados para el aislamiento y la identificación de virus^(1, 7). Materiales adecuados para la extracción y la amplificación de ácidos nucleicos para análisis de biología molecular. Bloque calefactor y centrifugadora para métodos de extracción rápida. Consultar los manuales de laboratorio de referencia para la identificación y amplificación de los ácidos nucleicos en muestras clínicas en hisopo.

Para los métodos de extracción rápida, se recomienda transferir la alícuota adecuada de MSwab® (consultar el párrafo **Procesamiento de las muestras MSwab® para análisis moleculares en el laboratorio, Método B**) a probetas Copan con cuentas de cristal (código disponible por separado 2E013S50).

CONSERVACIÓN DEL PRODUCTO

El producto está listo para el uso y no requiere ninguna preparación. Se debe conservar en su embalaje original a una temperatura entre 5-25°C hasta el momento de su utilización. No sobrecalentar. No incubar ni congelar antes del uso. La conservación incorrecta conlleva pérdida de eficacia. No utilizar después de la fecha de caducidad que aparece claramente impresa en el envase exterior, en cada unidad de recogida individual y en la etiqueta del tubo de transporte de muestras.

RECOGIDA, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras tomadas para análisis microbiológicos que prevén el aislamiento de bacterias o de virus deben tomarse y manipularse observando las directrices y los manuales publicados ^(7,8,4).

Con el propósito de mantener la viabilidad óptima de los microorganismos y la integridad de los ácidos nucleicos, transportar las muestras recogidas con MSwab® directamente al laboratorio, preferiblemente en un plazo de 2 horas desde su obtención ^(1,2,7). Cuando vaya a retrasarse la entrega o el análisis, las muestras deberán refrigerarse a una temperatura de 4-8°C o conservarse a temperatura ambiente (20-25°C) y procesarse en 48 horas. Los estudios sobre la viabilidad bacteriana de *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 y ATCC® 6538, y *Staphylococcus aureus* (resistente a la meticilina) ATCC® 43300 y ATCC® 700698, muestran que la viabilidad de los microorganismos analizados se mantiene hasta 14 días en un entorno refrigerado (4-8°C) o 72 horas a temperatura ambiente (20-25°C). Si se deben congelar las muestras virales, deberían congelarse a -70°C.

Las muestras recogidas con MSwab® para ser analizadas con NAAT deben procesarse en un plazo de 14 días si se conservan a temperatura ambiente (20-25°C), en un plazo de 21 días si se conservan a 4°C y en un plazo de 6 meses si se conservan a -20°C.

Las pruebas de rendimiento con Copan MSwab® se han realizado usando suspensiones de cepas de laboratorio depositadas en el hisopo FLOQSwabs® con el medio. Las cepas analizadas incluyen: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (resistente a la meticilina) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. typhimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, virus de la gripe A ATCC® VR-822, virus de la gripe B ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 y *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. Para realizar las pruebas de rendimiento no se utilizaron muestras humanas ni matrices de origen humano.

Los requisitos específicos para el transporte y la manipulación de las muestras deben ser conformes a los reglamentos estatales y federales ^(34, 35, 36, 37). Para el transporte de muestras dentro de centros médicos habrá que aplicar el reglamento interno del centro. Todas las muestras deberán procesarse en cuanto se reciban en el laboratorio.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Un paquete contiene cincuenta (50) unidades del sistema Copan MSwab®, y una caja contiene 6 paquetes de 50 unidades.

El sistema de recogida, transporte y conservación Copan MSwab® se suministra en tres formatos distintos:

- Formato kit de recogida: cada kit de recogida consta de un paquete que contiene un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca de plástico, con 1 ml o 3 ml de medio de transporte y conservación MSwab®, más una bolsita de apertura fácil estéril que contiene un hisopo FLOQSwabs® para recogida de muestras con una punta flocada con fibra de nylon (Fig. 2a).
- Formato solo tubo: un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca de plástico, con 1 ml, 2 ml o 3 ml de medio de transporte y conservación MSwab®.
- Formato kit de recogida con un hisopo de limpieza: cada kit de recogida consta de un paquete que contiene un tubo de fondo cónico, con tapón de rosca de plástico, con 2 ml de medio de transporte y conservación MSwab®, más una bolsita de apertura fácil estéril que contiene un hisopo FLOQSwabs® para recogida de muestras con una punta flocada con fibra de nylon (Fig. 2a), y una bolsita de apertura fácil estéril que contiene un hisopo de limpieza con una punta grande recubierta de fibra para retirar el exceso de moco vaginal (Fig. 2b).

Hay dos tipos de hisopos para la recogida de muestras: un hisopo de tamaño estándar con punta flocada de nylon para la obtención de muestras en sitios anatómicos como garganta, vagina, heridas, recto y heces; un hisopo minitip flexible con punta flocada de nylon para obtener muestras nasofaríngeas. Todos los hisopos flocados que se suministran con MSwab® tienen un punto de rotura en la varilla indicado con una línea de color. Después de la recogida de la muestra del paciente, el punto de rotura preformado permite romper fácilmente el aplicador dentro de la probeta que contiene el medio de transporte MSwab®. La forma especial de los tapones prensiles y de las probetas permite capturar la varilla del hisopo una vez que se ha roto y se ha cerrado el tapón (véase Fig. 1).

Al enroscar el tapón en la probeta, el extremo de la varilla se desplaza en la cavidad del tapón. Cuando se abre la probeta en el laboratorio de análisis, el aplicador permanece unido al tapón y el operador podrá retirar fácilmente el hisopo de la probeta y realizar los análisis microbiológicos empleando el tapón como empuñadura para sostener el aplicador del hisopo.

La función del tapón prensil solo se garantiza con el uso del hisopo flocado Copan de tamaño estándar.

La función del tapón prensil no es aplicable a los hisopos pernales (REF. 6E013N y 6E092N01).

Fig. 1 - Captura de la varilla rota del hisopo en el tapón de la probeta MSwab®



LÍMITES DE USO

- Las condiciones, el tiempo y el volumen de las muestras recogidas para el cultivo son variables significativas para obtener resultados fiables. Respetar las directrices recomendadas para la recogida de muestras ^(7,8,4).
- MSwab® no debe utilizarse como medio de enriquecimiento, selectivo o diferencial.
- El medio MSwab® no contiene antibióticos. Las muestras de pacientes que puedan contener una carga alta de contaminantes bacterianos podrían requerir la adición de antibióticos al medio de conservación y cultivo de células.
- Las pruebas de rendimiento de Copan MSwab® se han realizado utilizando cepas de laboratorio aplicadas a un hisopo siguiendo los protocolos de prueba descritos en el documento M40-A2: Approved Standard del Clinical and Laboratory Standards Institute ⁽⁹⁾. Las pruebas de rendimiento no se han realizado con muestras humanas.
- Las pruebas de rendimiento de Copan MSwab® se han realizado usando hisopos flocados Copan.
- Adoptar las precauciones necesarias para la prevención del riesgo biológico y aplicar técnicas asepticas aprobadas. El uso del producto se reserva exclusivamente a personal formado y cualificado.

ADVERTENCIAS

1. Al manipular muestras clínicas en el laboratorio, utilizar guantes y cualquier otro dispositivo de protección necesario. Al manipular o analizar muestras de un paciente, observar las recomendaciones para el nivel 2 de bioseguridad establecidas por el CDC ^(31, 32, 33, 34).
2. Para uso diagnóstico in vitro.
3. No reesterilizar los hisopos que no se hayan usado.
4. Este producto es para un solo uso; su reutilización puede causar riesgo de infección y/o resultados inexactos.
5. No volver a envasar.
6. No adecuado para aplicaciones distintas del uso previsto.
7. El usuario deberá verificar previamente el uso del producto con un kit de diagnóstico rápido o con instrumentos de diagnóstico.
8. No forzar, presionar o doblar en exceso durante la recogida de las muestras del paciente, ya que esto podría provocar la rotura de la varilla del hisopo.
9. No utilizar la misma probeta para más de un paciente. Esto daría lugar a un diagnóstico incorrecto. Antes de su transporte, asegurarse de que el tapón de rosca del MSwab® esté herméticamente cerrado.
10. No doblar el hisopo de recogida antes del uso.
11. No utilizar el medio MSwab® para humedecer o mojar el aplicador del hisopo antes de la toma de muestras, ni para humedecer las zonas donde se obtienen las muestras.
12. Evitar el contacto del medio MSwab® con la piel y las membranas mucosas. En caso de contacto, aclarar con abundante agua.
13. No ingerir el medio de transporte.
14. Seguir atentamente las instrucciones de uso.
15. El producto debe manipularse exclusivamente por personal formado.
16. Adoptar las precauciones aprobadas para evitar peligros biológicos y emplear técnicas asépticas.
17. Congelar y descongelar repetidas veces las muestras puede afectar a la recuperación de organismos viables ^(8,35).
18. El estado, el momento y el volumen de la muestra recogida para el cultivo son variables importantes para obtener resultados de cultivo fiables. Seguir las pautas recomendadas para la recogida de la muestra.
19. Siempre se debe asumir que todas las muestras contienen microorganismos infecciosos, por lo que se recomienda tener el máximo cuidado. Después del uso, eliminar las probetas y los hisopos de conformidad con los procedimientos del laboratorio para la eliminación de residuos infectados. Respetar el nivel 2 de bioseguridad establecido por el CDC ^(31, 32, 33, 34). Eliminar los reactivos que no se han utilizado, los residuos y las muestras de acuerdo con los reglamentos locales.
20. Copan MSwab® no debe utilizarse si (1) el producto presenta signos visibles de daño (p. ej., punta del hisopo o varilla rotas) o contaminación; (2) presenta signos visibles de pérdidas; (3) ha vencido la fecha de caducidad; (4) el envase del hisopo está abierto; (5) se detectan otros signos de deterioro.
21. Debido al diseño del hisopo minitip flexible, este podría enrollarse cuando se inserta en la probeta. Por lo tanto, si es necesario sacar el hisopo de la probeta, prestar atención y respetar las precauciones apropiadas sobre riesgos biológicos para proteger al operador y el entorno en caso de salpicaduras.
22. 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.

INSTRUCCIONES DE USO

Copan MSwab® está listo para el uso y no requiere ninguna preparación. Está disponible en las distintas configuraciones que se muestran en la Tabla 1.

REF.	Descripción del producto Copan MSwab®	Envase
6E012N	Envase para recogida de muestras que contiene: - Probeta de 12 x 80 mm con tapón de rosca, con 1 ml de medio de conservación y transporte MSwab®. - Hisopo FLOQSwabs® de tamaño estándar con punta flocada de nylon, estéril y en envoltorio individual.	50 unidades por paquete, 6 paquetes de 50 unidades por caja
6E013N	Envase para recogida de muestras que contiene: - Probeta de 12 x 80 mm con tapón de rosca, con 1 ml de medio de conservación y transporte MSwab®. - Hisopo minitip flexible con punta flocada de nylon, estéril y en envoltorio individual.	50 unidades por paquete, 6 paquetes de 50 unidades por caja
6E092N01	Probeta de transporte y conservación individual: - Probeta de 16 x 100 mm con fondo redondo y tapón de rosca, con 3 ml de medio de conservación y transporte MSwab®. - Hisopo minitip flexible con punta flocada de nylon, estéril y en envoltorio individual	50 unidades por paquete, 6 paquetes de 50 unidades por caja
6E011N	Probeta de transporte y conservación individual: - Probeta de 12 x 80 mm con fondo cónico y tapón de rosca, con 1 ml de medio de conservación y transporte MSwab®.	50 unidades por paquete, 6 paquetes de 50 unidades por caja
6U019N	Probeta de transporte y conservación individual: - Probeta de 12 x 80 mm con fondo cónico y tapón de rosca, con 2 ml de medio de conservación y transporte MSwab®.	50 unidades por paquete, 6 paquetes de 50 unidades por caja

6E076N	Probeta de transporte y conservación individual: - Probeta de 12 x 80 mm con fondo cónico y tapón de rosca, con 3 ml de medio de conservación y transporte MSwab®.	50 unidades por paquete, 6 paquetes de 50 unidades por caja
6E028N.MER	Envase para recogida de muestras de un solo uso que contiene: - Probeta de 12x80 mm con tapón de rosca, con 2 ml de medio de conservación y transporte MSwab®. - Hisopo FLOQSwabs® de tamaño estándar con punta flocada de nylon, estéril y en envoltorio individual. - Hisopo de limpieza con punta grande de fibra de rayón, estéril y en envoltorio individual.	50 unidades por paquete, 6 paquetes de 50 unidades por caja

Tabla 1

Recogida de muestras

La recogida correcta de las muestras del paciente es muy importante para que el aislamiento y la identificación de los microorganismos infecciosos se realice correctamente. Para obtener una guía específica sobre los procedimientos de recogida de muestras, consultar los manuales de referencia publicados (7, 2).

Para los códigos MSwab® 6E012N, 6E013N y 6E092N01:

1. Abrir el envase del kit MSwab®, sacar la probeta que contiene el medio y la bolsa interna que contiene el hisopo estéril.
2. Sacar el hisopo estéril de su bolsa (véase la Figura 2) y tomar la muestra clínica. El operador solo debe tocar el aplicador del hisopo por encima de la línea de rotura en color, como se muestra en la Figura 2, que es el extremo opuesto a la punta de fibra de nylon. En todo momento mientras se maneja el aplicador del hisopo, el operador no debe tocar la zona situada debajo de la línea de color del punto de rotura (la zona comprendida entre la línea y la punta flocada de nylon del hisopo), ya que esto llevaría a la contaminación de la varilla del aplicador y del cultivo posterior. Para evitar el riesgo de contaminación, asegurarse de que la punta del hisopo solo entre en contacto con el sitio de recogida.
3. Obtener la muestra del paciente.
4. Desenroscar y quitar el tapón del tubo MSwab® asegurándose de no derramar el medio.
5. Después de tomar la muestra, introducir el hisopo en la probeta hasta que el punto de rotura se encuentre al mismo nivel que la abertura de la probeta.
Doblar la varilla del hisopo en un ángulo de 180 grados para romperla por el punto de rotura marcado en rojo. Si es necesario, girar suavemente la varilla del hisopo hasta que se rompa por completo y retirar la parte superior de esta (Figura 2).
6. Desechar la parte rota de la varilla del hisopo en un contenedor aprobado para residuos médicos.
7. Volver a colocar el tapón en la probeta y cerrarlo herméticamente.
8. Escribir el nombre y los datos del paciente en la etiqueta de la probeta, o colocar la etiqueta de identificación del paciente.
9. Enviar la muestra al laboratorio.

Para el código MSwab® 6E028N.MER:

1. Abrir el envase del kit, sacar la probeta con el medio de transporte y las dos bolsas del interior, una con el hisopo estéril y otra con el hisopo de limpieza.
2. El uso del hisopo de limpieza está recomendado solo en caso de recogida de muestras endocervicales. El hisopo de limpieza con punta grande de fibra (véase la Figura 2.b) se utiliza exclusivamente para retirar el exceso de moco presente al nivel de la abertura del cuello del útero y las membranas mucosas circundantes. **Después del uso, desechar el hisopo en un contenedor aprobado para residuos sanitarios.**
3. En caso de recogida de otros tipos de muestras que no sean endocervicales, el hisopo de limpieza no se debe utilizar y deberá desecharse. Para la recogida de muestras clínicas, seguir las instrucciones que se han facilitado para los códigos 6E012N, 6E013N y 6E092N01 desde el paso 2 en adelante.

Para los códigos MSwab® 6E011N 6U019N y 6E076N:

1. Tras tomar la muestra del paciente con un hisopo, desenroscar y retirar el tapón de la probeta MSwab® teniendo cuidado para no derramar el medio de transporte.
2. Introducir el hisopo en la probeta.
3. Si el hisopo tiene un punto de rotura, doblar y romper el hisopo por el punto de rotura, manteniendo la probeta alejada de la cara.
4. Volver a colocar el tapón en la probeta y cerrarlo herméticamente.
5. Escribir el nombre y los datos del paciente en la etiqueta de la probeta, o colocar la etiqueta de identificación del paciente.
6. Enviar la muestra al laboratorio.

Fig. 2 - Hisopo de recogida con línea indicadora del punto de rotura y área de manipulación del aplicador

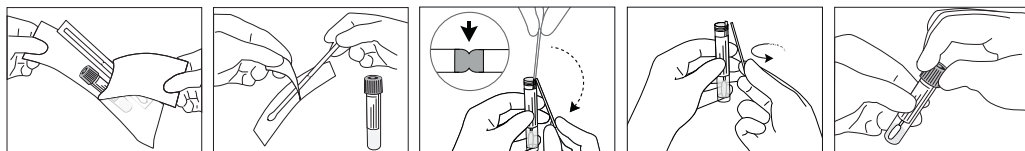


Fig. 2.a HISOPO DE RECOGIDA

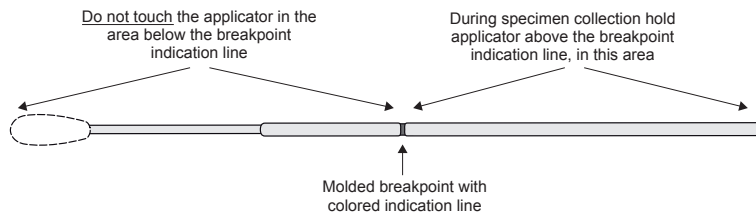
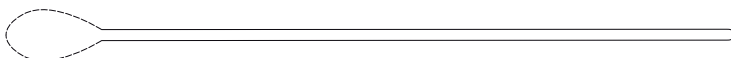


Fig 2.b HISOPO DE LIMPIEZA



Procesamiento de las muestras MSwab® en el laboratorio – Bacteriología

Las muestras MSwab® deben procesarse para los cultivos bacteriológicos usando los medios de cultivo recomendados y las técnicas de laboratorio adecuadas en función del tipo de muestra y el organismo examinado. Consultar el medio de cultivo recomendado y las técnicas de aislamiento e identificación de bacterias en muestras clínicas recogidas con hisopos en las directrices y los manuales de microbiología publicados ⁽¹⁻⁶⁾.

Los análisis de cultivos de muestras en hisopos para detectar la presencia de bacterias normalmente implican el uso de medio de cultivo agar sólido en placas de Petri. A continuación se describe el procedimiento de inoculación de muestras MSwab® en placas de Petri con agar sólido.

Nota: Al manipular muestras clínicas, utilizar guantes de látex y cualquier otro dispositivo de protección necesario. Respetar todas las recomendaciones del nivel 2 de bioseguridad establecidas por el CDC ^(31, 32, 33, 34).

Formato kit de recogida (con o sin hisopo de limpieza):

Agitar en vórtex la probeta MSwab® que contiene la muestra obtenida con el hisopo durante 5 segundos y distribuir y suspender la muestra de manera uniforme en el medio de transporte.

1. Desenroscar el tapón del MSwab® y retirar el aplicador del hisopo.
2. Girar la punta del aplicador MSwab® sobre la superficie de un cuadrante de la placa con el medio de cultivo para obtener el inóculo primario.
3. Si es necesario hacer un cultivo de la muestra en hisopo en una segunda placa de medio de cultivo, devolver el aplicador del MSwab® al tubo de medio de transporte durante dos segundos para que la punta del aplicador se empape de nuevo con la suspensión de medio de transporte/muestra del paciente y repetir el paso 3.
4. Cuando sea preciso inocular más placas de medio de cultivo, volver a introducir el aplicador del MSwab® en el tubo de medio de transporte para que la punta del aplicador del hisopo se empape con la suspensión de medio de transporte/muestra del paciente antes de inocular las placas.

En el procedimiento descrito anteriormente se utiliza el aplicador del MSwab® como varilla de inoculación para transferir la suspensión de muestra del paciente en medio de transporte a la superficie de la placa de cultivo y obtener el inóculo primario (véase la Fig. 3).

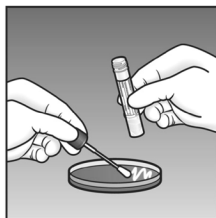
También se puede agitar el tubo del MSwab® en vórtex con el hisopo dentro durante 5 segundos y luego transferir 100 µl de la suspensión a cada placa de cultivo usando una pipeta volumétrica y puntas de pipeta estériles. Para sembrar el inóculo primario de la muestra del paciente en la superficie de la placa de cultivo deben emplearse técnicas de laboratorio estándar (véase la Fig. 4).

Formato solo probeta:

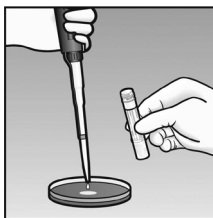
Agitar en vórtex la probeta MSwab® que contiene la muestra durante 5 segundos y distribuir y suspender la muestra del paciente de manera uniforme en el medio de transporte.

Transferir un mínimo de 100 µl de la suspensión a cada placa de cultivo usando una pipeta volumétrica y puntas estériles de pipeta. Para sembrar el inóculo primario de la muestra del paciente en la superficie de la placa de cultivo deben emplearse técnicas de laboratorio estándar (véase la Fig. 4).

Fig. 3 - Procedimientos de inoculación de muestras MSwab® en agar sólido en placas de Petri

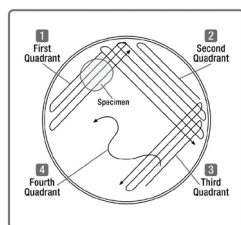


1. Usar el hisopo para inocular la muestra.



2. Usar una pipeta y puntas de pipeta estériles para inocular un mínimo de 100 µl de muestra.

Este procedimiento de inoculación es preferible si la muestra clínica también se analiza con técnicas NAAT.

Fig. 4 - Procedimiento de siembra de muestras MSwab® en placas de Petri con agar para aislamiento primario ⁽³³⁾

Sembrar el inóculo primario de la muestra MSwab® en la superficie del primer cuadrante de una placa de cultivo adecuada con agar.

Utilizar un asa para bacteriología estéril para sembrar el inóculo primario en la superficie del segundo, el tercer y el cuarto cuadrante de la placa de cultivo con agar.

Preparación de frotis con tinción de Gram de muestras MSwab®

El análisis de laboratorio de muestras clínicas en hisopo recogidas en determinados sitios del paciente puede incluir de forma rutinaria el examen microscópico de preparaciones teñidas («frotis directos») mediante el procedimiento de tinción de Gram. Esto puede proporcionar información de gran valor a los médicos que tratan a pacientes con enfermedades infecciosas ⁽²²⁾. Son muchos los casos en que una tinción de Gram puede ser de ayuda para realizar un diagnóstico ^(23, 27).

Asimismo, la tinción de Gram puede ser útil para evaluar la calidad de la muestra y para ayudar a elegir el medio de cultivo, especialmente con flora mixta.

Los portaobjetos de muestras de pacientes que se transportan en el sistema de transporte Copan MSwab® pueden prepararse para el análisis con tinción de Gram, como se describe a continuación, mediante el muestreo de una alícuota de la suspensión del hisopo mezclada con vórtex ^(3, 4). La muestra transportada en el medio de elución MSwab® representa una suspensión homogénea en fase líquida. Se puede extender de manera uniforme y permite una lectura clara y fácil.

Nota: Al manipular muestras clínicas, utilizar guantes de látex y cualquier otro dispositivo de protección necesario. Respetar todas las recomendaciones del nivel 2 de bioseguridad establecidas por el CDC ^(31, 32, 33, 34).

1. Tomar un portaobjetos limpio de vidrio, colocarlo en una superficie plana y delimitar una zona con un marcador con punta de diamante o un marcador de vidrio similar para identificar la posición del inóculo de la muestra. Nota: Puede utilizarse un portaobjetos con un pocillo de 20 mm marcado previamente.
2. Agitar en vórtex el tubo del MSwab® que contiene la muestra en hisopo durante 5 segundos para que la muestra se desprenda de la punta del hisopo y distribuir y suspender la muestra del paciente de manera uniforme en el medio.
3. Desensoscar el tapón del MSwab® y utilizar una pipeta estéril para transferir 1 o 2 gotas de la suspensión de muestra a la zona delimitada del portaobjetos de vidrio. Nota: 30 µl aprox. constituyen una cantidad de líquido adecuada para un portaobjetos con un pocillo de 20 mm de diámetro premarcado.

En caso de muestras densas o que contengan sangre debe prestarse especial atención para que la muestra quede distribuida en el portaobjetos en una capa fina. Es difícil detectar las bacterias en muestras con muchos glóbulos rojos y detritos.

4. Dejar que la muestra se seque al aire en el portaobjetos a temperatura ambiente o colocar el portaobjetos en un calentador eléctrico o en una incubadora de portaobjetos a una temperatura no superior a 42°C.
5. Fijar los frotis con metanol. Se recomienda la fijación con metanol porque previene la lisis de los glóbulos rojos, evita daños a las células anfitrionas y da como resultado un fondo más limpio ^(3, 4, 22).
6. Para realizar la tinción de Gram, consultar las directrices y los manuales de referencia del laboratorio publicados. Cuando se utilizan reactivos de tinción de Gram disponibles en el mercado, se recomienda seguir las instrucciones del fabricante del producto para realizar la prueba de rendimiento.

Para obtener más información o instrucciones sobre la preparación de portaobjetos para análisis microscópico, los procedimientos de tinción Gram y la interpretación y descripción de los análisis microscópicos, consultar los manuales de referencia del laboratorio publicados (1-5, 22-27).

Procesamiento de las muestras MSwab® en el laboratorio – Virología

La supervivencia del VHS-1 y VHS-2 depende de muchos factores, incluyendo el tipo y la concentración del microorganismo, la duración del transporte y la temperatura de conservación. Para mantener óptima la viabilidad, transportar las muestras directamente al laboratorio, preferiblemente en las 2 horas siguientes a la recogida (1, 2, 7, 29). Si se retrasa la entrega o el análisis inmediato, las muestras recogidas con el sistema de recogida, transporte y conservación Copan MSwab® deben refrigerarse a 4-8°C o conservarse a temperatura ambiente (20-25°C) y analizarse antes de 48 horas. Si se deben congelar las muestras, deberá hacerse a -70°C.

En los estudios de simulación de transporte y conservación, el sistema Copan MSwab® ha demostrado ser capaz de mantener la viabilidad del VHS-1 y VHS-2 en condiciones de temperatura refrigerada (4-8°C) y a temperatura ambiente (20-25°C) hasta 48 horas. Basándonos en los estudios del rendimiento realizados por Copan y por publicaciones científicas independientes, la viabilidad de algunos microorganismos es superior a temperatura refrigerada, en comparación con los que se mantienen a temperatura ambiente (12-21, 29).

Las muestras MSwab® deben procesarse para cultivo virológico con las líneas celulares y las técnicas de laboratorio recomendadas, que dependen del tipo de muestra y del microorganismo sometido a análisis. Para los shell vials y las técnicas recomendadas para el aislamiento y la identificación del VHS-1 y VHS-2 de muestras clínicas en hisopo, consultar las directrices y los manuales de virología publicados (1-6, 29, 30).

Los análisis de los cultivos de muestras en hisopos para la presencia de VHS-1 y VHS-2 implican normalmente el uso de cultivos celulares en shell vials. El procedimiento de inoculación de las muestras MSwab® en shell vials se describe a continuación.

NOTA: Durante la manipulación de muestras clínicas, utilizar guantes de látex y todos los demás equipos de protección necesarios. Observar las demás recomendaciones del nivel 2 de bioseguridad.

Formato kit de recogida:

1. Agitar en vórtex la probeta MSwab® que contiene la muestra en hisopo durante 5 segundos para separar la muestra de la punta del hisopo y dispersar y suspender la muestra del paciente de manera uniforme en el medio de transporte líquido.
2. Desenroscar el tapón del MSwab® y retirar el aplicador del hisopo.
3. Transferir un volumen de 200 µl de la suspensión al shell vial y proceder siguiendo el procedimiento interno del laboratorio.
NOTA: Las muestras de pacientes que puedan contener una carga alta de contaminación bacteriana podrían requerir la adición de antibióticos al medio realimentado.
4. Proceder con las técnicas adecuadas para la detección de virus.

Formato solo probeta:

1. Agitar en vórtex la probeta MSwab® durante 5 segundos.
2. Desenroscar el tapón del MSwab® y transferir un volumen de 200 µl de la suspensión al shell vial y proceder siguiendo el procedimiento interno del laboratorio.
NOTA: Las muestras de pacientes que puedan contener una carga alta de contaminación bacteriana podrían requerir la adición de antibióticos al medio realimentado.
3. Proceder con las técnicas adecuadas para la detección de virus.

Procesamiento de las muestras MSwab® para análisis moleculares en el laboratorio

Las muestras para la detección de ácidos nucleicos deberán procesarse en cuanto se reciban en el laboratorio. En caso de demora, consultar las condiciones adecuadas de conservación de las muestras.

NOTA: Para manipular muestras clínicas, utilizar guantes de látex y los demás equipos de protección general necesarios. Respetar el nivel 2 de bioseguridad establecido por el CDC (31, 32, 33, 34).

Cuando se trabaje con métodos moleculares, tomar precauciones para evitar la transferencia de contaminantes. Para evitar la transferencia de amplicones, es fundamental separar las áreas de trabajo y mantener un flujo de trabajo unidireccional (35).

La formulación del medio MSwab® se ha desarrollado para ser compatible con PCR Master Mix. Esto hace que sea idóneo para análisis NAAT directos sin necesidad de los pasos estándar de extracción y purificación.

Se pueden aplicar dos métodos distintos (A y B) para el procesamiento de las muestras MSwab®:

A) Método de extracción estándar

1. Agitar la probeta MSwab® en un vórtex durante 10 segundos;
2. Desenroscar el tapón (NOTA: para el formato solo probeta ir al punto 4) y, sujetándolo entre el pulgar y el índice, girarlo para extraer el máximo de fluido de la punta.
3. Desechar el hisopo;
4. Transferir la cantidad adecuada de muestra (p. ej., 200 µl) a un tubo de extracción siguiendo los procedimientos de laboratorio habituales. Para los códigos 6E013N y 6E092N01 donde no está disponible la función del tapón prensil, usar pinzas para extraer el aplicador del tubo. Tener cuidado y observar las precauciones adecuadas por el riesgo biológico para proteger al operador y el entorno en caso de salpicadura.
5. Continuar según los procedimientos de extracción y amplificación de los kits utilizados.

El sistema MSwab® se ha validado con los siguientes métodos de extracción: membrana de gel de sílice (Qiagen, Macherey & Nagel) y cuentas magnéticas (EasyMAG, Qiasymphony, Magnapure). Se pueden aplicar otros métodos de extracción, previa validación por el usuario final.

B) Método de extracción rápida

Para la detección viral se recomienda realizar un paso de choque térmico para lisar las muestras.

1. Agitar en vórtex la probeta original de la muestra MSwab® durante 10 segundos.

- Utilizando una micropipeta, transferir 200 µl de la muestra MSwab® a una microprobeta estéril con cuentas de cristal (2E0135S0: probeta Copan con cuentas de cristal, disponible por separado) y agitar en vórtex durante 10 segundos. Conservar la muestra MSwab® original para cultivos o pruebas adicionales.
- Calentar la microprobeta en un termóstato a una temperatura preestablecida de 98-100°C durante al menos:
 - 3 minutos PARA VIRUS
 - 10 minutos PARA BACTERIAS GRAM POSITIVAS
 - 5 minutos PARA BACTERIAS GRAM NEGATIVAS
- Dejar enfriar la probeta a temperatura ambiente durante 5 minutos.
- Centrifugar la microprobeta a 10000 xg durante 2 minutos para dejar sedimentar los detritos celulares.
- Transferir una alícuota de la muestra MSwab® procesada a la Master Mix y proceder con el paso de amplificación según los procedimientos del kit de amplificación.

El método de extracción rápida descrito anteriormente se ha probado con R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit y Genesig Real Time PCR kits de Primer Design, en comparación con el método de extracción estándar. Se pueden utilizar otros kits de amplificación PCR, previa validación. Las cepas analizadas incluyen: *B. pertussis* (ATCC® 8467), *S. aureus* (resistente a la metilicina) (ATCC® 43300), *E. coli* O157-H7 (ATCC® 700728), *S. typhimurium* (ATCC® 14028), *C. difficile* (ATCC® 9689), virus de la gripe A (ATCC® VR-822), virus de la gripe B (ATCC® VR 786), *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC® 43069) y *Chlamydia trachomatis* (ATCC® VR880). Para realizar las pruebas no se han utilizado matrices de origen humano. Los resultados obtenidos dependen en gran medida de que las muestras se recojan de manera adecuada y oportuna, y se transporten y procesen a tiempo en el laboratorio.

CONTROL DE CALIDAD

Los aplicadores MSwab® están testados para garantizar que no sean tóxicos para las bacterias. El medio MSwab® y los aplicadores están testados para garantizar que no sean tóxicos para las líneas celulares usadas para el cultivo de VHS-1 y VHS-2. El medio de transporte MSwab® está testado para la estabilidad del pH y para la ausencia de inhibidores con amplificación directa de ácidos nucleicos⁽⁹⁾. Antes de su comercialización, MSwab® se somete a pruebas de control de calidad en cuanto a su capacidad de mantener la viabilidad de bacterias Gram-positivas aerobias y anaerobias facultativas, y de los virus VHS a temperatura ambiente (20-25°C) durante períodos específicos. Los procedimientos para el control de calidad de los dispositivos de transporte de microbiología deben realizarse usando los métodos de comprobación descritos en el documento M40-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute y en otras publicaciones⁽⁹⁾. Si se observan resultados anómalos tras el control de calidad, los resultados del paciente deberán rechazarse.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos dependen en gran medida de que las muestras se hayan tomado correctamente, así como de su rápido transporte y correcto procesamiento en el laboratorio.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Recuperación de bacterias

Los procedimientos de análisis empleados para determinar el rendimiento relativo a la viabilidad bacteriana se han basado en los métodos de control de calidad descritos en el documento M40-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute⁽⁹⁾.

El sistema MSwab® está previsto únicamente para bacterias Gram-positivas aerobias y anaerobias facultativas, y virus VHS-1 y VHS-2, por lo que su aplicación en el campo está más restringida que la de otros dispositivos. Por este motivo, los estudios sobre la recuperación de bacterias se han llevado a cabo en las condiciones de transporte y conservación simuladas descritas y establecidas en el documento M40-A2 del CLSI, «Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard», y solo se incluyeron las cepas de bacterias Gram-positivas aerobias y anaerobias facultativas del grupo 1 del apartado 7.11.1 del documento M40-A2 del CLSI, en concreto:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Además, Copan ha incluido el análisis de otros microorganismos Gram-positivos aerobios y anaerobios facultativos, de relevancia clínica, no requeridos por el documento M40-A2 del CLSI. Las cepas bacterianas específicas usadas en estos estudios se indican a continuación:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (estreptococos grupo B)	ATCC® 13813
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (resistente a la metilicina)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (resistente a la metilicina)	ATCC® 700698

Todos los cultivos bacterianos eran de ATCC® (American Type Culture Collection) y se obtuvieron comercialmente.

La selección de dichos organismos también refleja las bacterias Gram-positivas aerobias y anaerobias facultativas que pueden encontrarse normalmente en las muestras recogidas y analizadas en cualquier laboratorio de microbiología clínica.

Los estudios sobre la viabilidad bacteriana a los que se ha sometido Copan MSwab® se han realizado en dos rangos de temperatura distintos, 4-8°C y 20-25°C, que corresponden respectivamente a la temperatura de refrigeración y a la temperatura ambiente. Los hisopos asociados a cada sistema de transporte se inocularon por triplicado con 100 µl de concentraciones específicas de suspensión de organismos. Los hisopos se depositaron en los tubos de medio de transporte correspondientes, donde permanecieron 0, 24 y 48 horas. En los intervalos de tiempo establecidos, cada hisopo se procesó según el método Roll-Plate o Swab Elution.

Se realizaron estudios adicionales con Copan MSwab® sobre la viabilidad bacteriana para *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 y ATCC® 6538, y *Staphylococcus aureus* (resistente a la metilicina), ATCC® 43300 y ATCC® 700698, en dos rangos de temperatura distintos, 4-8°C y 20-25°C, que corresponden respectivamente a la temperatura de refrigeración y a la temperatura ambiente.

El hisopo asociado al sistema de transporte se inoculó por triplicado con 100 µl de concentraciones específicas de suspensión de organismos. Los hisopos se depositaron en los tubos de medio de transporte correspondientes y:

Para los estudios realizados a 4-8°C, los tubos de MSwab® inoculados se mantuvieron durante 0 horas, 10 días y 14 días. En los intervalos de tiempo establecidos, cada MSwab® se procesó según el método Roll-Plate.

Para los estudios realizados a 20-25°C, los tubos de MSwab® inoculados se mantuvieron durante 0 y 72 horas. En los intervalos de tiempo establecidos, cada MSwab® se procesó según el método Roll-Plate.

Los estudios para evaluar el crecimiento excesivo de bacterias a los que se ha sometido Copan MSwab® se han realizado en un rango de temperatura de 4-8°C, que corresponde a la temperatura de refrigeración. Los hisopos asociados a cada sistema de transporte se inocularon por triplicado con 100 µl de concentraciones específicas de suspensión de organismos. Los hisopos se depositaron en los tubos de medio de transporte correspondientes, donde permanecieron 0 y 48 horas. En los intervalos de tiempo establecidos, cada hisopo se procesó según el método Roll-Plate. Los estudios para evaluar el crecimiento excesivo de bacterias se realizaron usando *Pseudomonas aeruginosa*.

Los estudios sobre la infectividad viral se realizaron usando VHS-1 y VHS-2. Los hisopos asociados a cada sistema de transporte se inocularon directamente por triplicado con 100 µl de suspensión viral. A continuación, los hisopos se depositaron en los tubos correspondientes del medio de transporte donde permanecieron 0, 24 y 48 horas a 4°C y a temperatura ambiente (20-25°C). En los intervalos de tiempo establecidos, cada hisopo se agitó con vórtex y se retiró del tubo de medio de transporte. Posteriormente se inocularon alícuotas de 200 µl de esta suspensión en shell vials. Todos los cultivos se procesaron mediante técnicas estándar de cultivo de laboratorio y se examinaron tras un tiempo de incubación especificado. La infectividad viral se determinó mediante el recuento de focos fluorescentes.

Los virus evaluados fueron los siguientes:

Virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1)	ATCC® VR-539
Virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2)	ATCC® VR-734.

De acuerdo con el documento M40-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute, la viabilidad de cada microorganismo de ensayo se midió a las 48 horas y se comparó con los criterios de aceptación.

En los estudios de viabilidad con ambos métodos, Roll-Plate y Swab Elution, el sistema Copan MSwab® pudo mantener una recuperación aceptable de todos los organismos evaluados, tanto a temperaturas de refrigeración (4-8°C) como a temperatura ambiente (20-25°C). Para el método Roll-Plate, la recuperación aceptable se define como ≥ 5 UFC después del tiempo de conservación especificado a partir de la dilución específica que generó los recuentos en placa en tiempo cero más próximos a 300 UFC. Para el método Swab Elution, la recuperación aceptable se define como una disminución de UFC no superior a $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) entre el recuento de UFC en tiempo cero y el valor de UFC de los hisopos después del tiempo de conservación especificado.

Se analizaron puntos temporales adicionales para *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 y ATCC® 6538, y *Staphylococcus aureus* (resistente a la metilicina), ATCC® 43300 y ATCC® 700698.

En los estudios de viabilidad con el método Roll-Plate, el sistema Copan MSwab® pudo mantener una recuperación aceptable de todos los microorganismos evaluados, tanto a temperaturas de refrigeración (4-8°C) durante 14 días como a temperatura ambiente (20-25°C) durante 72 horas. Para el método Roll-Plate, la recuperación aceptable se define como ≥ 5 UFC después del tiempo de conservación especificado a partir de la dilución específica que generó los recuentos en placa en tiempo cero más próximos a 300 UFC.

Los estudios de viabilidad también incluyen una valoración del crecimiento bacteriano excesivo a temperaturas refrigeradas (4-8°C). Para el método Swab Elution, se realizó una evaluación del crecimiento excesivo en todas las especies de bacterias analizadas tras 48 horas en conservación. La evaluación del crecimiento excesivo con el método Swab Elution se define como un incremento de UFC superior a $1 \log_{10}$ entre el recuento de UFC en tiempo cero y tras el período de conservación. Para el método Roll-Plate, se realizó una evaluación del crecimiento excesivo con un análisis por separado en el que se dosificaron en el hisopo 100 µl, que contenían 102 UFC de cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*. En estas condiciones, el crecimiento excesivo se define como un incremento de UFC superior a $1 \log_{10}$ entre el recuento de UFC en tiempo cero y tras el período de conservación de 48 horas.

El sistema Copan MSwab® demostró que no se produce crecimiento excesivo según los criterios de aceptación descritos en el documento M40-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute.

El sistema Copan MSwab® fue capaz de mantener la infectividad de los virus siguientes durante 48 horas como mínimo, tanto a temperatura ambiente (20-25°C) como en el refrigerador (2-8°C), en las condiciones de ensayo descritas anteriormente: virus del herpes simple tipo 1, virus del herpes simple tipo 2.

Conservación de ácidos nucleicos

Las muestras recogidas mediante MSwab® para analizar con técnicas de amplificación de ácidos nucleicos se deben procesar en un plazo de 14 días de la recogida si se han conservado a temperatura ambiente (20-25°C), en un plazo de 21 días si se han conservado a 4°C y en un plazo de 6 meses si se han conservado a -20°C.

Las pruebas de rendimiento con Copan MSwab® se han realizado utilizando suspensiones de cepas de laboratorio depositadas en el hisopo FLOQSwabs® con el medio. Las cepas analizadas incluyen: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (resistente a la metilicina) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. typhimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, virus de la gripe A ATCC® VR-822, virus de la gripe B ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 y *C. trachomatis* ATCC® VR880. Para realizar las pruebas de rendimiento no se han empleado muestras clínicas humanas ni matrices de origen humano.

Los resultados obtenidos dependen en gran medida de que las muestras se recojan de manera correcta y apropiada, y se transporten y analicen en el laboratorio con prontitud.

TABLA DE SÍMBOLOS

Véase la tabla de símbolos al final de las instrucciones de uso.

Entnahme-, Transport- und Konservierungssystem Copan MSwab® für molekularbiologische Anwendungen und Kulturen

Gebrauchsanleitung

ZWECKBESTIMMUNG

Das MSwab® System wird für die Gewinnung, den Transport und die Konservierung von klinischen Proben von der Entnahmestelle bis zum Analyselabor verwendet. Im Labor können die in MSwab® entnommenen Proben im Rahmen klinischer Standardverfahren untersucht werden anhand:

- Bakterienkultur von aeroben und fakultativ anaeroben grampositiven Mikroorganismen;
- Virenkultur von HSV1- und HSV2-Viren;
- Erkennung der Nukleinsäuren von Bakterien und Viren.

ZUSAMMENFASSUNG UND GRUNDLAGEN

Eines der Routineverfahren bei der Diagnose von bakteriellen Infektionen stützt sich auf sichere Gewinnung und den sicheren Transport der entnommenen Tupferproben. Dies kann durch Verwendung des Entnahme-, Transport- und Konservierungssystems Copan MSwab® erfolgen. Das Transport- und Konservierungsmedium ist dafür ausgelegt, die Lebensfähigkeit von aeroben und fakultativ anaeroben grampositiven Bakterien sowie HSV-1- und HSV-2-Viren während des Transports zum Untersuchungslabor zu erhalten.

Ferner gestattet Copan MSwab® die Konservierung der Nukleinsäuren von Krankheitserregern für die Identifikation anhand von Techniken der molekularbiologischen Amplifikation (NAAT).

Das Entnahme-, Konservierungs- und Transportsystem Copan MSwab® wird in drei verschiedenen Formaten bereitgestellt:

- a) Format Probenahme-Set. Jedes Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Kunststoffröhrchen mit Schraubverschluss, konischem Boden und 1 ml oder 3 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab® sowie einen kleinen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwabs® Tupfer mit Nylon-Flockfaser-Spitze für die Probenahme enthält.
- b) Format nur Röhrchen. Ein Kunststoffröhrchen mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 1 ml, 2 ml oder 3 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab® enthält.
- c) Format Probenahme-Set mit Reinigungstupfer. Jedes Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Kunststoffröhrchen mit Schraubverschluss, konischem Boden und 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab®, einen kleinen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwabs® Tupfer mit Nylon-Flockfaser-Spitze für die Probenahme und einen weiteren sterilen Peel-Beutel mit einem Reinigungstupfer mit großer Faserspitze zum Entfernen von überschüssigem Vaginalschleim enthält.

Nachdem die Probe unter Einsatz des Tupfers gewonnen wurde, muss diese sofort in das MSwab® Teströhrchen mit dem Transport- und Konservierungsmedium gegeben werden. Die mit MSwab® gewonnenen Proben, die mit den Techniken der Bakterien- oder Virenkultur untersucht werden sollen, müssen zur optimalen Erhaltung der Lebensfähigkeit der Mikroorganismen nach Möglichkeit innerhalb von 2 Stunden ab der Probenahme^(1, 2, 7) direkt zum Labor gebracht werden. Erfolgen die Übergabe der Probe an das Labor oder die Untersuchung erst mit Verzögerung, können die Proben auf 4-8°C gekühlt oder bei Raumtemperatur (20-25°C) aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden ab der Entnahme untersucht werden. Studien zur Lebensfähigkeit der Bakterien *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 und ATCC® 6538 sowie *Staphylococcus aureus* (Methicillin-resistent) ATCC® 43300 und ATCC® 700698 zeigen, dass die Lebensfähigkeit der getesteten Mikroorganismen bei Lagerung in gekühlter Umgebung (4-8°C) bis zur 14 Tage und bei Raumtemperatur (20-25°C) bis zu 72 Stunden beträgt. Unabhängige wissenschaftliche Studien von Tupfer-Transportsystemen zeigen, dass bestimmte Bakterien eine bessere Lebensfähigkeit in gekühltem Zustand als bei Raumtemperatur aufweisen⁽¹²⁻²¹⁾. Falls Virenproben eingefroren werden sollen, hat dies bei -70°C zu erfolgen.

Die mit MSwab® für die Detektion der Nukleinsäuren von Bakterien oder Viren gewonnenen Proben sind innerhalb von 14 Tagen zu untersuchen, wenn sie bei Umgebungstemperatur (20-25°C) aufbewahrt werden, binnen 21 Tagen bei Lagerung bei 4°C und binnen 6 Monaten bei Lagerung bei -20°C.

REAGENZIEN

Formulierung des MSwab® Transportmediums

Destilliertes Wasser
Organisches Lösungsmittel
Puffer
Rinderserumalbumin

pH: 8,5 ± 0,20

ERFORDERLICHES NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

Geeignete Materialien zur Isolierung und Kultivierung von aeroben und fakultativ anaeroben grampositiven Bakterien. Dazu gehören Kulturschalen oder Teströhrchen und Inkubationssysteme. Für die empfohlenen Protokolle der Kultivierungs- und Identifizierungstechniken für aerobe und fakultativ anaerobe Bakterien aus klinischen Tupferproben wird der Benutzer auf die einschlägigen Laborhandbücher verwiesen^(2, 4). Geeignete Materialien zur Isolierung, Differenzierung und Kultivierung von Viren. Diese Materialien umfassen Zelllinien für die Gewebekultur, Nähmedien für Gewebe, Inkubationssysteme und Lesegeräte. Für die empfohlenen Protokolle zur Isolierung und Identifizierung von Viren wird auf das einschlägige Referenzmaterial verwiesen^(1, 7). Materialien für die Extraktion und Amplifikation von Nukleinsäuren für molekularbiologische Tests. Erwärmungseinheit und Zentrifuge für Methoden zur Schnellextraktion. Für die Identifikation und Amplifikation von Nukleinsäuren aus klinischen Tupferproben sind die einschlägigen Laborhandbücher heranzuziehen.

Bei Schnellextraktionsmethoden empfiehlt es sich, die angemessene MSwab® Portion (hierzu den Absatz **Aufbereitung von MSwab® Proben für molekularbiologische Laboruntersuchungen, Methode B** heranziehen) in Copan-Teströhrchen mit Glasperlen (getrennt erhältlich, Code 2E013S50) zu geben.

PRODUKTLAGERUNG

Das Produkt ist gebrauchsfertig und erfordert keine weitere Vorbereitung. Es ist bis zum Gebrauch in der Originalverpackung bei 5-25°C zu lagern.

Nicht überhitzen. Vor dem Gebrauch nicht inkubieren oder einfrieren. Unsachgemäße Lagerung kann zum Verlust der Wirksamkeit führen. Nicht nach Ablauf des Verfalldatums verwenden, das gut sichtbar auf der Umverpackung, auf jeder einzelnen Entnahmeeinheit und auf dem Etikett des Probenstransportröhrchens aufgedruckt ist.

SAMMELN, TRANSPORT UND KONSERVIERUNG VON PROBEN

Proben für mikrobiologische Untersuchungen, welche die Isolierung von Bakterien oder Viren umfassen, sollten entsprechend den vorliegenden Handbüchern und Leitlinien^(7, 8, 4) gewonnen und gehandhabt werden.

Die mit MSwab® gewonnenen Proben müssen zur optimalen Erhaltung der Lebensfähigkeit der Mikroorganismen nach Möglichkeit innerhalb von 2 Stunden nach der Probenahme^(1, 2, 7) direkt zum Labor gebracht werden. Wenn sich Übergabe oder Verarbeitung verzögern, sollten die Proben bei 4-8°C gekühlt oder bei Raumtemperatur (20-25°C) aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden verarbeitet werden. Studien zur Lebensfähigkeit der Bakterien *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 und ATCC® 6538 sowie *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistent) ATCC® 43300 und ATCC® 700698 zeigen, dass die Lebensfähigkeit der getesteten Mikroorganismen bei gekühlter Lagerung (4-8°C) bis zur 14 Tage und bei Raumtemperatur (20-25°C) bis zu 72 Stunden beträgt. Falls das Einfrieren von Virenproben erforderlich ist, hat dies bei -70°C zu erfolgen.

Die mit MSwab® zur Untersuchung anhand NAAT gewonnenen Proben sind innerhalb von 14 Tagen zu verarbeiten, wenn sie bei Raumtemperatur (20-25°C) aufbewahrt werden, binnen 21 Tagen bei Lagerung bei 4°C und binnen 6 Monaten bei Lagerung bei -20°C.

Leistungstests für Copan MSwab® wurden durchgeführt, indem Suspensionen von Laborstämmen auf die dem Medium zugeordneten FLOQSwabs®-Tupfer aufgetragen wurden. Zu den getesteten Stämmen gehören: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (methicillin-resistent) ATCC® 43300, *E. coli* O157 H7, ATCC® 700728, *S. tymphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, *Influenzavirus A* ATCC® VR-822, *Influenzavirus B* ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 und *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. Bei den Leistungstests wurden keine Humanproben oder Materialien menschlichen Ursprungs verwendet.

Die spezifischen Anforderungen für Transport und Handhabung der Proben haben mit den regionalen und nationalen Bestimmungen übereinzustimmen^(34, 35, 36, 37). Für den Versand der Proben innerhalb medizinischer Einrichtungen sind deren interne Richtlinien zu befolgen. Alle Proben sollten sofort nach Ankunft im Labor verarbeitet werden.

GELIEFERTES MATERIAL

Fünfzig (50) Stück Copan MSwab® System sind in einer Schachtel enthalten und ein Karton enthält 6 Schachteln mit je 50 Stück.

Das Entnahme-, Konservierungs- und Transportsystem Copan MSwab® wird in drei verschiedenen Formaten bereitgestellt:

- Format Probenahme-Set: Jedes Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Kunststoffröhrchen mit Schraubverschluss, konischem Boden und 1 ml oder 3 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab® sowie einen kleinen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwabs® Tupfer mit Nylon-Flockfaser-Spitze für die Probenahme enthält (Abb. 2a).
- Format nur Röhrchen: Ein Kunststoffröhrchen mit Schraubverschluss und konischem Boden, das 1 ml, 2 ml oder 3 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab® enthält.
- Format Probenahme-Set mit Reinigungstupfer: Jedes Probenahme-Set besteht aus einem Paket, das ein Kunststoffröhrchen mit Schraubverschluss, konischem Boden und 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab®, einen kleinen sterilen Peel-Beutel mit einem FLOQSwabs® Tupfer mit Nylon-Flockfaser-Spitze (Abb. 2a) für die Probenahme und einen weiteren sterilen Peel-Beutel mit einem Reinigungstupfer mit großer Faserspitze zum Entfernen von überschüssigem Vaginialschleims enthält (Abb. 2b).

Es gibt zwei Arten von Probenentnahmetupfern: Tupfer in Standardgröße mit Nylon-Flockfaser-Spitze, die zur Gewinnung von Proben an anatomischen Stellen, wie Rachen, Vagina, Wunden, Rektum und Stuhl bestimmt sind; Flexible Minitips mit kleiner Nylon-Flockfaser-Spitze für die nasopharyngeale Entnahme. Alle mit MSwab® mitgelieferten Tupfer haben eine Sollbruchstelle am Tupferstäbchen, die mit einer farbigen Linie markiert ist.

Nach der Gewinnung der Probe am Patienten erleichtert die vorgeformte Bruchstelle das Abbrechen des Tupfers im Teströhrchen mit dem MSwab® Transportmedium. Die besondere Gestaltung von Greifverschluss und Teströhrchen gestattet die Aufnahme des Tupferstäbchens im Deckel, nachdem es abgebrochen und der Deckel verschlossen worden ist (siehe Abb. 1).

Beim Aufschrauben des Deckels auf das Röhrchen wird das Ende des Stäbchens in die Aufnahme im Deckel geschoben. Wenn das Röhrchen im Labor geöffnet wird, bleibt der Applikator im Deckel stecken, sodass die Laborfachkraft den Tupfer bequem aus dem Röhrchen nehmen und die mikrobiologische Untersuchung vornehmen kann, indem der Deckel als Halter des Tupferapplikators verwendet wird.

Die Funktion Greifverschluss ist nur bei Verwendung des Copan-Tupfers mit Flockfaser Spitze in Standardgröße garantiert.

Die Funktion Greifverschluss ist beim Nasentupfer (REF 6E013N und 6E092N01) nicht gegeben.

Abb. 1 - Aufnahme des abgebrochenen Tupferschafts im Deckel des MSwab® Teströhrchens.



EINSCHRÄNKUNGEN

- Bedingungen, Zeitabläufe und Volumen der für die Kultur entnommenen Proben sind signifikante Variablen für die Erzielung verlässlicher Ergebnisse. Für die Entnahme von Proben sind die empfohlenen Richtlinien zu beachten^(7, 8, 4).
- MSwab® darf nicht als Anreicherungs-, Auswahl- oder Differentialmedium verwendet werden.
- Das MSwab® Medium enthält keine Antibiotika. Bei Patientenproben, die möglicherweise stark bakteriell kontaminiert sind, kann die Zugabe von Antibiotika zum Konservierungsmedium und zur Zellkultur erforderlich sein.

4. Die Leistungstests von Copan MSwab® wurden mit auf einen Tupfer aufgetragenen Laborstämmen entsprechend den Testprotokollen durchgeführt, die in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 – Approved Standard beschrieben werden⁽⁹⁾. Die Leistungstests wurden nicht mit Humanproben durchgeführt.
5. Die Leistungstests von Copan MSwab® wurden mit Flockfaser-Tupfern von Copan ausgeführt.
6. Vorsichtsmaßnahmen in Bezug auf biologische Risiken sowie bewährte aseptische Techniken einhalten. Das Produkt darf nur von geschultem und qualifiziertem Fachpersonal verwendet werden.

WARNHINWEISE

1. Bei der Handhabung klinischer Proben Handschuhe und alle anderen erforderlichen Schutzausrüstungen tragen. Bei der Handhabung oder Analyse von Patientenproben die Biologische Sicherheitsstufe 2 laut CDC (amerikanische Gesundheitsbehörde) beachten^(31, 32, 33, 34).
2. Zur Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
3. Unbenutzte Tupfer nicht erneut sterilisieren.
4. Dieses Produkt ist nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt. Eine Wiederverwendung birgt das Risiko von Infektionen und/oder ungenauen Ergebnissen.
5. Das Produkt nicht wieder verpacken.
6. Nur für die vorgesehene Zweckbestimmung verwenden.
7. Die Verwendung des Produkts mit einem Schnelldiagnose-Kit oder mit Diagnoseinstrumenten muss vom Benutzer im Vorfeld überprüft werden.
8. Bei der Probenahme am Patienten keine übermäßige Kraft anwenden, zu stark drücken oder biegen, da hierdurch das Tupferstäbchen abbrechen könnte.
9. Dasselbe Röhrchen nicht für mehr als einen Patienten verwenden. Denn dies würde zu Diagnosefehlern führen. Vor dem Transport ist sicherzustellen, dass der Schraubverschluss des MSwab® Röhrchens fest verschlossen ist.
10. Den Abstrichtupfer vor dem Gebrauch nicht biegen.
11. Das MSwab® Nährmedium nicht verwenden, um den Tupfer vor der Entnahme der Probe anzufeuchten oder um die Probenentnahmestelle zu befeuchten
12. Den Kontakt des MSwab® Mediums mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Sollte es dennoch zum Kontakt kommen, mit reichlich Wasser spülen.
13. Das Transportmedium nicht schlucken.
14. Die Gebrauchsanweisung sorgfältig befolgen.
15. Das Produkt darf nur von geschultem Fachpersonal verwendet werden.
16. Die anerkannten Sicherheitsvorkehrungen für den Umgang mit biologischen Gefahrstoffen beachten und aseptische Techniken anwenden.
17. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben kann die Erholung lebensfähiger Organismen reduzieren^(6,35).
18. Zustand, Zeitpunkt und Volumen der für die Kultur genommenen Proben sind Variablen, die für das Erreichen von zuverlässigen Ergebnissen für die Kultur signifikant sind. Für die Probenahme empfohlene Leitlinien befolgen.
19. Es muss immer davon ausgegangen werden, dass alle Proben infektiöse Mikroorganismen enthalten, weshalb zu größter Vorsicht geraten wird. Nach Gebrauch die Proberöhrchen und Tupfer entsprechend der Laborpraxis für infektiöse Abfälle entsorgen. Die biologische Sicherheitsstufe 2 laut CDC beachten^(31, 32, 33, 34). Nicht verwendete Reagenzien, Abfälle und Proben den örtlichen Vorschriften entsprechend entsorgen.
20. Copan MSwab® darf nicht verwendet werden, wenn (1) sichtbare Anzeichen von Beschädigung (z.B. gebrochene Spitze oder Schaft) oder Kontamination vorliegen, (2) sichtbare Anzeichen für das Auslaufen vorhanden sind, (3) das Verfalldatum abgelaufen ist, (4) die Tupferverpackung offen ist, (5) andere Anzeichen einer Güteminderung vorliegen.
21. Aufgrund der Form des Tupfers Flexible Minitip könnte dieser sich beim Einführen ins Röhrchen verdrehen. Daher ist, falls der Tupfer aus dem Röhrchen entfernt werden muss, darauf zu achten, dass geeignete Vorkehrungen zum Schutz vor biologischen Risiken getroffen werden, um den Anwender und die Umgebung vor Spritzern zu bewahren.
22. Die Version der Gebrauchsanleitung prüfen. Die richtige Version ist diejenige, die mit dem Produkt mitgeliefert oder in elektronischer Form bereitgestellt wird; letztere kann durch den e-IFU-Indikator am Etikett der Verpackung erkannt werden.

GEBRAUCHSANLEITUNG

Copan MSwab® ist gebrauchsfertig und erfordert keine weitere Vorbereitung. Das Produkt liegt in den unterschiedlichen, in Tabelle 1 aufgeführten Konfigurationen vor.

REF	Produktbeschreibung Copan MSwab®	Packung
6E012N	Packung für die Probenahme mit: - 12 x 80 mm Röhrchen mit Schraubverschluss, mit 1 ml Konservierungs- und Transportmedium MSwab®. - FLOQSwabs® Tupfer in Standardgröße mit Nylon-Flockfaser-Spitze, steril und einzeln verpackt.	50 Einheiten/Schachtel 6x50 Einheiten/Karton
6E013N	Packung für die Probenahme mit: - 12 x 80 mm Röhrchen mit Schraubverschluss, mit 1 ml Konservierungs- und Transportmedium MSwab®. - Flexible-Minitip-Tupfer mit Nylon-Flockfaser-Spitze, steril und einzeln verpackt.	50 Einheiten/Schachtel 6x50 Einheiten/Karton
6E092N01	Einzelnes Transport- und Konservierungsröhrchen: - 16 x 100 mm Röhrchen mit rundem Boden und Schraubverschluss, mit 3 ml Konservierungs- und Transportmedium MSwab®. - Flexibler Minitip-Tupfer mit Nylon-geflockter Spitze, steril und einzeln verpackt	50 Einheiten/Schachtel 6x50 Einheiten/Karton

6E011N	Einzelnes Transport- und Konservierungsröhrchen: - 12 x 80 mm Röhrchen mit konischem Boden und Schraubverschluss, mit 1 ml Konservierungs- und Transportmedium MSwab®.	50 Einheiten/Schachtel 6x50 Einheiten/Karton
6U019N	Einzelnes Transport- und Konservierungsröhrchen: - 12 x 80 mm Röhrchen mit konischem Boden und Schraubverschluss, mit 2 ml Konservierungs- und Transportmedium MSwab®.	50 Einheiten/Schachtel 6x50 Einheiten/Karton
6E076N	Einzelnes Transport- und Konservierungsröhrchen: - 12 x 80 mm Röhrchen mit konischem Boden und Schraubverschluss, mit 3 ml Konservierungs- und Transportmedium MSwab®.	50 Einheiten/Schachtel 6x50 Einheiten/Karton
6E028N.MER	Packung mit Einwegmaterial für die Probenahme mit: - 12 x 80 mm Röhrchen mit Schraubverschluss, mit 2 ml Transport- und Konservierungsmedium MSwab®. - FLOQSwabs® Tupfer in Standardgröße mit Nylon-Flockfaser-Spitze, steril und einzeln verpackt. - Reinigungstupfer mit großer Rayon-Faserspitze, steril und einzeln verpackt.	50 Einheiten/Schachtel 6x50 Einheiten/Karton

Tabelle 1

Probenahme

Die sachgemäße Probenahme beim Patienten ist entscheidend für die erfolgreiche Isolierung und Identifizierung infektiöser Mikroorganismen. Spezifische Anleitungen für die bei der Probenentnahme anzuwendenden Verfahren sind in den veröffentlichten Referenzhandbüchern enthalten^(7, 2).

Für die MSwab® Codes 6E012N, 6E013N und 6E092N01:

1. Die Packung des MSwab® Kits öffnen, das Teströhrchen mit dem Transportmedium und den Innenbeutel mit dem sterilen Abstrichtupfer entnehmen.
2. Den sterilen Tupfer aus seinem Beutel (siehe Abb. 2) nehmen und die klinische Probe gewinnen. Der Anwender darf den Tupferapplikator, wie in Abbildung 2 erläutert, nur oberhalb der farbig markierten Sollbruchstelle, d.h. am entgegengesetzten Ende zur Nylon-Faserspitze berühren. Während der Handhabung des Tupferapplikators darf der Anwender den Bereich unterhalb der farbigen Sollbruchstelle (den Abschnitt zwischen der Linie und der Nylon-beflockten Tupferspitze) berühren, da dies zur Kontamination des Applikatorstäbchens und der angesetzten Kultur führen würde. Um die Kontaminationsgefahr zu vermeiden, ist darauf zu achten, dass die Tupferspitze nur mit der Probenahmestelle in Berührung kommt.
3. Den Abstrich vom Patient entnehmen.
4. Die Verschlusskappe vom MSwab® Röhrchen abschrauben und abnehmen; dabei darauf achten, dass das Medium nicht verschüttet wird.
5. Nach Gewinnung der Probe, den Tupfer in das Röhrchen einführen, bis sich die Sollbruchstelle in Höhe der Öffnung befindet. Das Tupferstäbchen im 180° Winkel biegen, um es an der rot markierten Sollbruchstelle abbrechen. Falls erforderlich, das Tupferstäbchen vorsichtig drehen, bis es vollständig abgebrochen ist, und den oberen Teil des Stäbchens entfernen (Abbildung 2).
6. Den abgebrochenen Teil des Tupferstäbchens in einem Behälter für medizinische Abfälle entsorgen.
7. Den Verschluss wieder aufsetzen und das Röhrchen fest verschließen.
8. Den Namen und die Daten des Patienten auf dem Etikett am Röhrchen notieren.
9. Die Probe ans Labor senden.

Für MSwab® Code 6E028N.MER:

1. Die Packung öffnen, das Röhrchen mit dem Transportmedium und die beiden inneren Beutel - einen mit dem sterilen Tupfer und den anderen mit dem „Reinigungstupfer“ - entnehmen.
2. Die Verwendung des Reinigungstupfers wird nur für die Gewinnung von Proben aus dem Gebärmutterhals empfohlen. Der Reinigungstupfer mit seiner breiten Faserspitze (siehe Abb. 2.b) wird nur zur Entfernung von überschüssigem Schleim an Muttermund und umgebenden Schleimhäuten verwendet. **Nach der Verwendung den Tupfer in einem Behälter für medizinische Abfälle entsorgen.** Bei anderen Entnahmeverfahren als der Gewinnung von Proben aus dem Gebärmutterhals darf der Reinigungstupfer nicht verwendet werden und ist stattdessen zu verwerfen.
3. Für die Gewinnung klinischer Proben die ab Punkt 2 für die Codes 6E012N, 6E013N und 6E092N01 aufgeführten Anweisungen befolgen.

Für die MSwab® Codes 6E011N 6U019N und 6E076N:

1. Nach der Gewinnung der Probe am Patienten mithilfe des Tupfers den Verschluss vom MSwab® Röhrchen abschrauben und darauf achten, dass kein Transportmedium verschüttet wird.
2. Den Tupfer in das Röhrchen einführen.
3. Falls der Tupfer eine Sollbruchstelle aufweist, diesen an dieser Stelle biegen und abbrechen, wobei das Röhrchen vom Gesicht abgewandt zu halten ist.
4. Den Verschluss wieder aufsetzen und das Röhrchen fest verschließen.
5. Den Namen und die Daten des Patienten auf dem Etikett am Röhrchen notieren.
6. Die Probe ans Labor senden.

Abb. 2 - Abstrichtupfer mit Markierungslinie der Sollbruchstelle und Greifbereich am Applikator

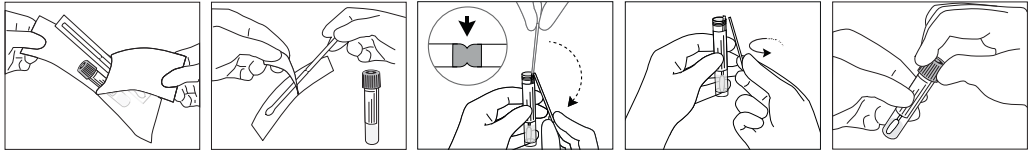


Abb. 2.a ABSTRICHTUPFER

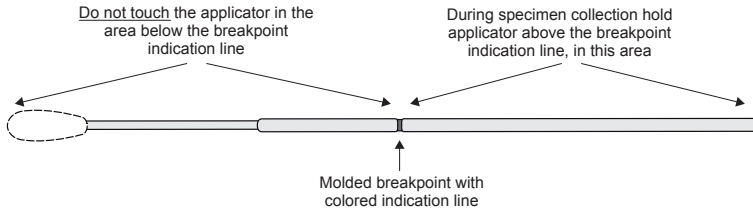
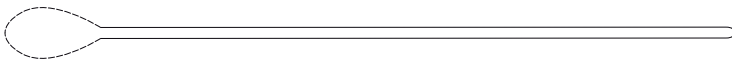


Fig 2.b REINIGUNGSTUPFER



Verarbeitung der MSwab® Proben im Labor – Bakteriologie

MSwab® Proben, die für eine Bakterienkultur verarbeitet werden sollen, müssen unter Einsatz der für den jeweiligen Probentyp und den gesuchten Mikroorganismus empfohlenen Labortechnik auf ein geeignetes Kulturmedium geimpft werden. Für die Nährmedien und Kulturtechniken zur Isolierung und Identifizierung von Bakterien aus klinischen Abstrichproben wird auf die einschlägigen mikrobiologischen Handbücher und Leitlinien verwiesen (1-6).

Die Untersuchung der Kulturen von Abstrichproben zum Nachweis von Bakterien sehen normalerweise die Verwendung von festem Agar als Nährmedium in Petrischalen vor. Das Verfahren zur Inokulation der MSwab® Proben auf festem Agar in Petrischalen ist das folgende.

Hinweis: Bei der Handhabung klinischer Proben Latexhandschuhe und alle anderen erforderlichen Schutzausrüstungen tragen. Die weiteren von CDC herausgegebenen Empfehlungen für die biologische Sicherheitsstufe 2 beachten (31, 32, 33, 34).

Format Probenahme-Set (mit oder ohne Reinigungstupfer):

Das MSwab® Röhrchen mit der Abstrichprobe 5 Sekunden lang mit Vortexmischer schütteln, um die Probe gleichmäßig im Transportmedium zu dispergieren und suspendieren.

1. Den MSwab® Verschluss aufschrauben und den Tupfer herausziehen.
2. Zur Vornahme der Primärinokulation die Spitze des MSwab® Applikators über einen Quadranten der Kulturplatte rollen.
3. Wenn die Beimpfung einer zweiten Kulturplatte benötigt wird, den MSwab® Tupfer zwei Sekunden lang zurück in das Röhrchen mit dem Transportmedium tauchen, damit die Tupferspitze sich wieder mit Probenmaterial vollsaugt, und Schritt Nr. 3 wiederholen.
4. Wenn eine Beimpfung weiterer Kulturplatten benötigt wird, den MSwab® Tupfer jedes Mal zurück in das Röhrchen mit dem Transportmedium tauchen, damit die Tupferspitze sich wieder mit Probenmaterial vollsaugt, bevor die zusätzliche Platte beimpft wird.

Im zuvor beschriebenen Verfahren wird der MSwab® Tupfer als Applikator verwendet, um die Suspension der Patientenprobe im Transportmedium auf die Oberfläche der Kulturschale zu übertragen und das primäre Inokulum herzustellen (siehe Abb. 3).

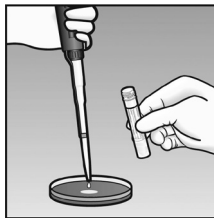
Alternativ dazu kann der Bediener das MSwab® Röhrchen mit eingestecktem Tupfer 5 Sekunden lang mit Vortex mischen und dann 100 µl Suspension mit einer volumetrischen Dosierpipette mit steriler Spitze auf die einzelnen Kulturschalen übertragen. Anschließend das Standardlaborverfahren anwenden, um das Ausstreichen des primären Inokulums der Patientenprobe auf der Plattenoberfläche vorzunehmen (siehe Abb. 4).

Format nur Röhrchen:

Das MSwab® Röhrchen mit der Probe 5 Sekunden lang mit Vortexmischer schütteln, um die Probe gleichmäßig im Transportmedium zu dispergieren und suspendieren.

Mindestens 100 µl Suspension mit einer volumetrischen Dosierpipette mit steriler Spitze auf die einzelnen Kulturschalen übertragen. Anschließend das Standardlaborverfahren anwenden, um das Ausstreichen des primären Inokulums der Patientenprobe auf der Plattenoberfläche vorzunehmen (siehe Abb. 4).

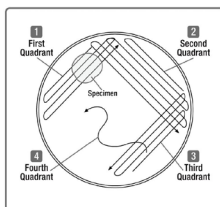
Abb. 3 - Verfahren zur Inokulation der MSwab® Proben auf festem Agar in Petrischalen



1. Verwendung des Tupfers für die Inokulation der Probe.

2. Verwendung eines Pipettierers mit sterilen Spitzen zur Inokulation von mindestens 100 µl Probe.

Diesem Inokulationsverfahren ist der Vorzug zu geben, wenn die klinische Probe auch mit NAAT-Techniken untersucht werden soll.

Abb. 4 - Verfahren zum Ausstreichen von MSwab® Proben auf Agar-Petrischalen für die primäre Isolierung⁽³³⁾

Ein primäres Inokulum der MSwab® Probe im ersten Quadranten der Oberfläche einer geeigneten Petrischale mit Agar vornehmen.

Eine sterile Impföse für Bakteriologie verwenden, um das primäre Inokulum über die Oberfläche des zweiten, dritten und vierten Quadranten der Kulturschale mit Agar auszustreichen.

Vorbereitung von Abstrichen der MSwab® Proben mit Gramfärbung

Die Laboranalyse der von bestimmten Entnahmestellen am Patienten gewonnenen klinischen Proben kann routinemäßig die mikroskopische Untersuchung von mit dem Gramverfahren gefärbten Präparaten („Direktabstriche“) beinhalten. Dies kann wertvolle Informationen für Ärzte liefern, die Patienten mit Infektionskrankheiten behandeln⁽²²⁾. Es gibt viele Fälle, in denen eine Gramfärbung hilfreich für die Diagnose sein kann^(23, 27).

Die Gramfärbung kann auch zur Qualitätsbeurteilung der Proben beitragen und bei der Auswahl der Nährmedien helfen, insbesondere bei Mischflora. Die Objektträger von Patientenproben, die im Copan MSwab® Transportsystem transportiert werden, können wie nachstehend beschrieben für die Analyse der Gramfärbung vorbereitet werden, indem ein Aliquot der mit Vortexmischer geschüttelten Probensuspension entnommen wird^(3, 4). Diese im MSwab® Elutionsmedium transportierten Proben stellen eine homogene Suspension in flüssiger Phase dar. Sie können gleichmäßig ausgestrichen werden, was ein klares und einfaches Lesen ermöglicht.

Hinweis: Bei der Handhabung klinischer Proben Latexhandschuhe und alle anderen erforderlichen Schutzausrüstungen tragen. Die weiteren von CDC herausgegebenen Empfehlungen für die biologische Sicherheitsstufe 2 beachten^(31, 32, 33, 34).

1. Einen sauberen Objektträger nehmen, auf eine ebene Fläche legen und einen Bereich mit einer Diamantspitze oder einem ähnlichen Werkzeug umschreiben, um die Position für die Inokulation der Probe zu kennzeichnen. Hinweis: Es kann auch ein Objektträger mit vormarkierter 20 mm Vertiefung verwendet werden.
2. Das MSwab® Röhrchen mit der Abstrichprobe 5 Sekunden lang mit Vortexmischer schütteln, um die Probe aus der Tupferspitze zu lösen und gleichmäßig im Nährmedium zu dispergieren und suspendieren.
3. Den MSwab® Verschluss abschrauben und mit einer sterilen Pipette 1-2 Tropfen der Probensuspension auf den umschriebenen Bereich des Objektträgers aufbringen. Hinweis: Etwa 30 µl stellen eine geeignete Flüssigkeitsmenge für eine vormarkierte 20 mm Vertiefung dar.

Bei besonders dickflüssigen oder bluthaltigen Proben muss besonders darauf geachtet werden, die Probe dünn auf dem Objektträger zu verteilen. Bakterien sind schwer zu erkennen, wenn die Probe viele rote Blutkörperchen und Verunreinigungen aufweist.

4. Warten, bis die Probe auf dem Objektträger bei Raumtemperatur an der Luft trocknet, oder den Objektträger in ein elektrisches Heizgerät oder einen Inkubator bei maximal 42°C geben.
5. Die Ausstriche mit Methanol fixieren. Die Fixierung mit Methanol wird empfohlen, da sie der Lyse der roten Blutkörperchen vorbeugt, eine Beschädigung der Wirtszellen verhindert und für einen saubereren Hintergrund sorgt^(3, 4, 22).
6. Für die Gramfärbung müssen die einschlägigen Leitlinien und Laborhandbücher beachtet werden. Falls handelsübliche Reagenzien für die Gramfärbung verwendet werden, müssen die Herstelleranweisungen der Packungsbeilage für die Durchführung des Leistungstests beachtet werden.

Für weitere Informationen oder Leitfäden zur Vorbereitung der Probenobjektträger für die mikroskopische Analyse, für Informationen zu den Verfahren für die Gramfärbung und für die Auswertung und Protokollierung der mikroskopischen Analysen wird auf die einschlägigen Laborhandbücher verwiesen^(1 - 5, 22 - 27).

Verarbeitung der MSwab® Proben im Labor – Virologie

Das Überleben von HSV-1- und HSV-2-Viren hängt von vielen Faktoren ab, einschließlich der Art und Konzentration des Mikroorganismus, der Dauer des Transports und der Lagertemperatur. Um eine optimale Lebensfähigkeit zu gewährleisten, müssen die Proben nach Möglichkeit innerhalb von 2 Stunden ab Probenahme direkt zum Labor gebracht werden^(1, 2, 7, 29). Verzögern sich der Transport oder die anschließende Verarbeitung, müssen die mit dem MSwab® Entnahme-, Konservierungs- und Transportsystem gewonnenen Proben bei 4-8°C gekühlt oder bei Raumtemperatur (20-25°C) aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden verarbeitet werden. Falls das Einfrieren von Proben erforderlich ist, hat dies bei -70°C zu erfolgen. Bei Simulationsstudien zu Transport und Konservierung hat das Copan MSwab® System gezeigt, dass es die Lebensfähigkeit von HSV-1- und HSV-2-Viren unter gekühlten Bedingungen (4-8°C) und bei Raumtemperatur (20-25°C) für bis zu 48 Stunden erhalten kann. Ausgehend von den von Copan durchgeführten Leistungsstudien sowie von unabhängigen wissenschaftlichen Veröffentlichungen ist die Überlebensfähigkeit bestimmter Mikroorganismen bei gekühlter Temperatur höher als bei Raumtemperatur^(12 – 21, 29).

MSwab® Proben sollten unter Verwendung der je nach Art der Probe und je nach untersuchtem Mikroorganismus empfohlenen Nährmedien und Labortechniken für die Virenkultur verarbeitet werden. Für Flachbodengläser und die empfohlenen Techniken zur Isolierung und Identifizierung von HSV-1- und HSV-2-Viren aus klinischen Abstrichproben wird auf die Leitlinien und Handbücher für Virologie verwiesen^(1 – 6, 29, 30).

Die Untersuchung der Kulturen von Abstrichproben auf HSV 1 und HSV 2 erfordert normalerweise den Einsatz von Zellkulturen in Flachbodengläsern. Das Verfahren zur Inokulation der MSwab® Proben in Flachbodengläsern wird nachfolgend beschrieben.

HINWEIS: Latexhandschuhe und andere Schutzkleidung tragen, die den allgemeinen Sicherheitsvorkehrungen für den Umgang mit klinischen Proben entsprechen. Die anderen Empfehlungen für die biologische Sicherheitsstufe 2 beachten.

Format Probenahme-Set:

1. Das MSwab® Röhrchen mit der Abstrichprobe 5 Sekunden lang mit Vortex mischen, um die Probe von der Tupferspitze zu lösen und gleichmäßig im flüssigen Transportmedium zu dispergieren suspendieren.
2. Den MSwab® Verschluss aufschrauben und den Tupfer herausziehen.
3. Ein Volumen von 200 µl der Suspension unter Befolgung des laborinternen Verfahrens in das Flachbodenglas übertragen.
HINWEIS: Bei Patientenproben, die möglicherweise eine große Menge an bakteriellen Verunreinigungen aufweisen, ist unter Umständen die Zugabe von Antibiotika in das Nährmedium erforderlich.
4. Mit den geeigneten Techniken zur Detektion der Viren fortfahren.

Format nur Röhrchen:

1. Das MSwab® Röhrchen mit der Abstrichprobe 5 Sekunden lang mit Vortex mischen.
2. Den MSwab®-Deckel abschrauben und ein Volumen von 200 µl der Suspension unter Befolgung des laborinternen Verfahrens in das Flachbodenglas übertragen.
HINWEIS: Bei Patientenproben, die möglicherweise eine große Menge an bakteriellen Verunreinigungen aufweisen, ist unter Umständen die Zugabe von Antibiotika in das Nährmedium erforderlich.
3. Mit den geeigneten Techniken zur Detektion der Viren fortfahren.

Aufbereitung der MSwab® Proben für die molekularbiologische Untersuchung im Labor

Im Labor eingegangene Proben für den Nukleinsäurenachweis sind sofort nach dem Eingang im Labor zu verarbeiten. Bei Verzögerungen sind die jeweiligen Konservierungsbedingungen zu befolgen.

HINWEIS: Für die Handhabung klinischer Proben Latexhandschuhe und andere allgemeine Schutzausrüstung verwenden. Die biologische Sicherheitsstufe (BSL) 2 laut CDC einhalten^(31, 32, 33, 34).

Beim Arbeiten mit molekularbiologischen Methoden ist Kontaminationsverschleppung zu verhindern. Eine räumliche Trennung von Arbeitsbereichen und unidirektionale Arbeitsabläufe sind zum Verhindern von Amplikon-Verschleppung unerlässlich⁽³⁵⁾.

Die Formulierung des MSwab® Nährmediums wurde für Kompatibilität mit PCR Master Mix ausgelegt, weshalb es sich für direkte Anwendungen von Nukleinsäureamplifikation ohne die Erfordernis einer Zwischenstufe mit Standardextraktion und Aufreinigung eignet.

Zwei unterschiedliche Methoden (A und B) können für die Verarbeitung von MSwab® Proben verwendet werden:

A) Standardmethode für die Extraktion

1. Das MSwab® Röhrchen 10 Sekunden lang im Vortex mischen;
2. Den Deckel abschrauben (HINWEIS: für Format nur Röhrchen zu Punkt 4 gehen), diesen zwischen Daumen und Zeigefinger halten und drehen, damit der Großteil der Flüssigkeit aus der Spitze abfließt.
3. Den Tupfer entsorgen;
4. Eine geeignete Probenmenge (z.B. 200 µl) unter Befolgung normaler Laborverfahren in ein Extraktionsröhrchen geben. Bei Code 6E013N und 6E092N01, die nicht über den Greifverschluss verfügen, zum Herausnehmen des Applikators eine Pinzette verwenden. Vorsichtig vorgehen und geeignete Schutzmaßnahmen gegen biologische Gefahren ergreifen, um Anwender und Umgebung vor Spritzern zu schützen.
5. Den Extraktions- und Amplifikationsverfahren der verwendeten Sets entsprechend fortfahren.

Das MSwab® System wurde anhand folgender Extraktionsmethoden validiert: Kieselgel-Membran (Qiagen, Macherey & Nagel) und Magnetische Beads (EasyMAG, Qiasymphony, Magnapure). Andere Extraktionsmethoden sind nach Validierung durch den Endanwender benutzbar.

B) Methode für die Schnellextraktion

Für die Suche nach Viren empfiehlt sich ein Durchgang mit Temperaturschock zum Lysieren der Proben.

1. Das Originalröhrchen der MSwab® Probe 10 Sekunden lang mit Vortex schütteln.
2. Unter Einsatz einer Mikropipette 200 µl der MSwab® Probe in ein steriles Mikroröhrchen mit Glasperlen (Beads) geben (2E013S50: separat erhältliches Copan Röhrchen mit Glasperlen) und 10 Sekunden lang mit Vortex schütteln. Die MSwab® Originalprobe für die Kultur oder zusätzliche Tests aufbewahren.

3. Das Mikroröhrchen in einem auf 98-100°C eingestellten Thermostaten erhitzen über mindestens:
 - 3 Min. FÜR VIREN
 - 10 Min. FÜR GRAMPOSITIVE BAKTERIEN
 - 5 Min. FÜR GRAMNEGATIVE BAKTERIEN
4. Das Röhrchen 5 Minuten lang bei Umgebungstemperatur abkühlen lassen.
5. Das Mikroröhrchen bei 10000 g 2 Minuten lang zentrifugieren, damit sich die Zellrückstände absetzen.
6. Eine Portion der so aufbereiteten MSwab® Probe in Master Mix geben und entsprechend der vom verwendeten Kit vorgesehenen Prozedur mit der Amplifikation fortfahren.

Die oben beschriebene Methode für die Schnellextraktion wurde mit den Testkits R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time und Genesis Real Time PCR von Primer Design im Vergleich zu Standardmethoden für die Schnellextraktion getestet. Andere PCR Amplifikationsmethoden sind nach Validierung durch den Endanwender benutzbar. Zu den getesteten Stämmen gehören: *B. pertussis* (ATCC® 8467), *S. aureus* (methicillin-resistent) (ATCC® 43300), *E. coli* O157-H7 (ATCC® 700728), *S. tiphimurium* (ATCC® 14028), *C. difficile* (ATCC® 9689), Influenza A virus (ATCC® VR-822), Influenza B virus (ATCC® VR 786), *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC® 43069) und *Chlamydia trachomatis* (ATCC® VR880). Es wurden keine Tests mit Materialien menschlichen Ursprungs vorgenommen. Die Zuverlässigkeit des Untersuchungsergebnisses hängt stark von fachgerechter Probenahme sowie zeitnahe Transport und Verarbeitung im Labor ab

QUALITÄTSKONTROLLE

Die im MSwab® System enthaltenen Tupfer wurden auf ihre Ungiftigkeit für Bakterien getestet. MSwab® Transportmedium und Tupfer wurden auf ihre Ungiftigkeit für die zur Kultur von HSV-1- und HSV-2-Viren verwendeten Zelllinien getestet. Das MSwab® Transportmedium wurde anhand Nukleinsäure-Direktamplifikation auf die Stabilität des pH-Werts und auf das Fehlen von Inhibitoren getestet ⁽⁹⁾. MSwab® wurde vor seiner Vermarktung Qualitätskontrollen zum Nachweis der Erhaltung der Lebensfähigkeit von aeroben und fakultativ anaeroben grampositiven Bakterien sowie von HSV-Viren bei Raumtemperatur (20-25°C) über bestimmte Zeiträume unterzogen. Für die Qualitätssicherungsverfahren in Bezug auf Transportsysteme für mikrobiologische Proben müssen die in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 und in anderen Veröffentlichungen beschriebenen Testmethoden angewandt werden ⁽⁹⁾. Wenn bei der Qualitätskontrolle abweichende Ergebnisse festgestellt werden, dürfen die Patientenergebnisse nicht weitergeleitet werden.

ERGEBNISSE

Die erzielten Resultate hängen zu einem Großteil von der fachgerechten und angemessenen Gewinnung der Probe, dem raschen Transport und der fachgerechten Verarbeitung im Labor ab.

LEISTUNGSMERKMALE

Wiederfindungsrate der Bakterien

Die Untersuchungsverfahren zur Bestimmung der Leistung in Bezug auf die Erhaltung der Lebensfähigkeit von Bakterien basieren auf den in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 ⁽⁹⁾ beschriebenen Qualitätskontrollmethoden.

Das MSwab® System ist ausschließlich für die Probenahme von aeroben und fakultativ anaeroben grampositiven Bakterien sowie von HSV-1- und HSV-2-Viren bestimmt, weshalb sein Anwendungsbereich im Vergleich zu anderen Vorrichtungen eingeschränkt ausfällt. Aus diesem Grund wurden die Studien zur Wiederfindungsrate unter simulierten Transport- und Konservierungsbedingungen durchgeführt, die in CLSI M40-A2, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard beschrieben und definiert sind. Dabei wurden allein Stämme von aeroben und fakultativ anaeroben grampositiven Bakterien aus Gruppe 1 gemäß Abschnitt 7.1.1.1 des Dokuments CLSI M40-A2 berücksichtigt, und zwar:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Darüber hinaus hat Copan die Prüfung zusätzlicher aerob und fakultativ anaerober grampositiver Mikroorganismen mit klinischer Relevanz durchgeführt, die im Dokument CLSI M40-A2 nicht gefordert werden. Die spezifischen Bakterienstämme dieser Studien sind nachfolgend aufgeführt:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Gruppe-B-Streptokokken)	ATCC® 13813
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent)	ATCC® 700698

Alle Bakterienkulturen waren ATCC® (American Type Culture Collection) und wurden auf dem üblichen Handelsweg bezogen.

Die Auswahl dieser Mikroorganismen spiegelt auch jene aeroben und fakultativ anaeroben grampositiven Bakterien wider, die normalerweise in Proben enthalten sind, die in einem typischen Labor für klinische Mikrobiologie entnommen und analysiert werden.

Die Studien über die Erhaltung der Lebensfähigkeit von Bakterien mit Copan MSwab® wurden in zwei verschiedenen Temperaturintervallen (4-8°C und 20-25°C), die jeweils Kühltemperatur und Raumtemperatur entsprechen, ausgeführt. Die Tupfer, die jedem Transportsystem beiliegen, wurden dreifach mit 100 µl Mikrobiosuspension in spezifischen Konzentrationen beimpft. Die so inokulierten Tupfer wurden anschließend in ihre Röhrchen mit Transportmedium eingeführt und dort 0 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden lang aufbewahrt. Zu festgelegten Zeitintervallen wurde jeder Tupfer unter Einsatz der Methode „Swab Elution“ oder „Roll-Plate“ verarbeitet.

Weitere Studien über die Lebensfähigkeit der Bakterien *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 und ATCC® 6538, sowie *Staphylococcus aureus* (Methicillin-resistent), ATCC® 43300 und ATCC® 700698, wurden mit Copan MSwab® in zwei verschiedenen Temperaturintervallen (4-8°C und 20-25°C), von denen einer der Kühltemperatur und der andere der kontrollierten Raumtemperatur entspricht, ausgeführt.

Die Tupfer, die jedem Transportsystem beiliegen, wurden dreifach mit 100 µl Mikrobensuspension in spezifischen Konzentrationen beimpft. Die Tupfer wurden anschließend in ihre Röhrchen mit Transportmedium gesteckt und:

Bei den im Bereich von 4-8°C durchgeführten Studien wurden die inokulierten MSwab® Proben 0 Stunden, 10 Tage und 14 Tage lang aufbewahrt. Zu den festgelegten Zeitintervallen wurde jeder MSwab® nach der Roll-Plate-Methode verarbeitet.

Bei den im Bereich von 20-25°C durchgeführten Studien wurden die inokulierten MSwab® Proben über 0 und 72 Stunden aufbewahrt. Zu den festgelegten Zeitintervallen wurde jeder MSwab® nach der Roll-Plate-Methode verarbeitet.

Die Studien zur Beurteilung der bakteriellen Überbesiedelung wurden an Copan MSwab® im der Kühltemperatur entsprechenden Temperaturintervall 4-8°C ausgeführt. Die Tupfer, die jedem Transportsystem beiliegen, wurden dreifach mit 100 µl Mikrobensuspension in spezifischen Konzentrationen beimpft. Die Tupfer wurden anschließend in ihre Röhrchen mit Transportmedium eingeführt und dort 0 Stunden und 48 Stunden lang aufbewahrt. Zu den festgelegten Zeitintervallen wurde jeder Tupfer nach der Roll-Plate-Methode verarbeitet.

Die Studien zur bakteriellen Überbesiedelung wurden mit *Pseudomonas aeruginosa* durchgeführt.

Studien zur Infektiosität von Viren wurden unter Einsatz von HSV 1 und HSV 2 durchgeführt. Die in jedem Transport-System enthaltenen Abstrichtupfer wurden dreimal mit 100 µl viraler Suspension inokuliert. Die Abstrichtupfer wurden anschließend in ihre Röhrchen mit Transportmedium eingeführt und 0, 24 und 48 Stunden lang bei 4°C und bei Raumtemperatur (20-25°C) aufbewahrt. Zu festgelegten Zeitintervallen wurde jeder Tupfer mit Vortex gemischt, aus seinem Röhrchen mit Transportmedium genommen und anschließend wurden 200 µl Portionen dieser Suspension auf Flachbodengläser inokuliert. Alle Kulturen wurden mit Standardkulturverfahren für Labors verarbeitet und nach einer spezifischen Inkubationszeit untersucht. Die virale Infektiosität wurde durch Zählen der fluoreszierenden Herde bestimmt.

Evaluierte Viren:

Herpes Simplex-Virus Typ 1 (HSV 1)	ATCC® VR-539
Herpes Simplex-Virus Typ 2 (HSV 2)	ATCC® VR-734.

Gemäß dem Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 wird die Lebensfähigkeitsleistung für jeden Mikroorganismus nach 48 h gemessen und mit den Akzeptanzkriterien verglichen.

Sowohl bei den mit der Roll-Plate- als auch bei den mit der Swab-Elution-Methode durchgeführten Studien zur Lebensfähigkeit erwies sich das Copan MSwab® System als in der Lage, sowohl bei Kühltemperatur (4-8°C) als auch bei Raumtemperatur (20-25°C) eine akzeptable Wiederfindungsrate aufrechtzuerhalten. Als akzeptable Wiederfindung für die Roll-Plate-Methode gilt eine Keimzahl von ≥ 5 KBE im Anschluss an die jeweilige Konservierungszeit derjenigen Verdünnung, deren Zählung zum Zeitpunkt Null am nächsten bei 300 KBE lag. Als akzeptable Wiederfindung für die Swab-Elution-Methode gilt ein Rückgang der KBE von maximal $3 \log_{10}$ ($1x 10^3 \pm 10\%$) zwischen der KBE-Zählung zum Zeitpunkt Null und den KBE am Tupfer nach der jeweiligen Konservierungszeit.

Zusätzliche Zeitpunkte wurden getestet für *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 und ATCC® 6538 sowie *Staphylococcus aureus* (Methicillin-resistent) ATCC® 43300 und ATCC® 700698.

Bei den mit der Roll-Plate-Methode durchgeführten Studien zur Lebensfähigkeit erwies sich das Copan MSwab® System als in der Lage, sowohl bei Kühltemperatur (4-8°C) über 14 Tage als auch bei Raumtemperatur (20-25°C) über 72 Stunden eine akzeptable Wiederfindungsrate aller Mikroorganismen aufrechtzuerhalten. Als akzeptable Wiederfindung für die Roll-Plate-Methode gilt eine Keimzahl von ≥ 5 KBE im Anschluss an die jeweilige Konservierungszeit derjenigen Verdünnung, deren Zählung zum Zeitpunkt Null am nächsten bei 300 KBE lag.

Die Studien zur Lebensfähigkeit umfassen auch die Messung der bakteriellen Überbesiedelung bei Kühltemperatur (4-8°C). Für die Swab-Elution-Methode wird eine Messung der Überbesiedelung an allen getesteten Bakterienarten nach 48-stündiger Konservierungszeit vorgenommen. Die Feststellung einer Überbesiedelung bei Einsatz der Swab-Elution-Methode wird definiert als ein Anstieg der KBE von über $1 \log_{10}$ zwischen der KBE-Zählung zum Zeitpunkt Null und der Zählung nach der Konservierungszeit. Für die Roll-Plate-Methode wird eine Messung der Überbesiedelung anhand einer separaten Analyse vorgenommen, bei der die Tupfer mit 100µl einer 102 KBE *Pseudomonas aeruginosa* enthaltenden Kultur beimpft werden. Die Überbesiedelung unter diesen Bedingungen wird definiert als ein Anstieg der KBE von über $1 \log_{10}$ zwischen der KBE-Zählung zum Zeitpunkt Null und der Zählung nach einer Konservierungszeit von 48 Stunden.

Für das Copan MSwab® System ergab sich auf Grundlage der in Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 beschriebenen Akzeptanzkriterien keine Überbesiedelung.

Das Copan MSwab® System konnte die Infektiosität der folgenden Viren sowohl bei Raumtemperatur (20-25°C) als auch in der Kühlung (2-8°C) unter den oben beschriebenen Testbedingungen mindestens 48 Stunden lang aufrechterhalten: Herpes-Simplex-Virus Typ 1, Herpes-Simplex-Virus Typ 2.

Erhaltung von Nukleinsäuren

Die mit MSwab® für die Untersuchung anhand der Nukleinsäureamplifikation gewonnenen Proben sind innerhalb von 14 Tagen ab Gewinnung zu verarbeiten, wenn sie bei Raumtemperatur (20-25°C) aufbewahrt werden, binnen 21 Tagen bei Lagerung bei 4°C und binnen 6 Monaten bei Lagerung bei -20°C.

Leistungstests mit Copan MSwab® wurden unter Einsatz von Suspensionen von Laborstämmen durchgeführt, die auf FLOQSwabs® Tupfer in Verbindung mit Nährmedium gegeben wurden. Zu den getesteten Stämmen gehören: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (Methicillin-resistent) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, *Influenza A virus* ATCC® VR-822, *Influenza B virus* ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 und *C. trachomatis* ATCC® VR880. Es wurden keine Leistungstests unter Einsatz von klinischen Humanproben und/oder Materialien menschlichen Ursprungs vorgenommen.

Die erhaltenen Resultate hängen hauptsächlich von der sachgerechten und angemessenen Gewinnung der Probe und sowie vom Transport und der zeitnahen Analyse im Labor ab.

TABELLE DER VERWENDETEN SYMBOLE

Siehe Symboltabelle am Ende der Gebrauchsanweisung.

Système de prélèvement, transport et conservation Copan MSwab® pour applications moléculaires et de culture

Instructions d'utilisation

USAGE PRÉVU

Le système MSwab® est conçu pour la collecte, le transport et la conservation d'échantillons cliniques entre le lieu de prélèvement et le laboratoire d'analyses. En laboratoire, les échantillons prélevés dans le système MSwab® peuvent être analysés au moyen de procédures cliniques standards pour:

- la culture bactérienne de micro-organismes aérobies et anaérobies facultatives Gram positifs
- culture virale de virus HSV 1 et HSV 2
- recherche d'acides nucléiques de bactéries et de virus.

RÉSUMÉ ET PRINCIPES

L'une des procédures systématiques dans le diagnostic des infections bactériennes implique le prélèvement et le transport en toute sécurité d'échantillons sur écouvillon. Ceci peut être effectué en utilisant le système de prélèvement, conservation et transport Copan MSwab®. Le milieu a été conçu pour maintenir la viabilité des bactéries aérobies et anaérobies facultatives Gram positives et des virus HSV 1 et HSV 2 pendant le transport jusqu'au laboratoire d'analyses.

En outre, le système Copan MSwab® permet de conserver les acides nucléiques des pathogènes à identifier à l'aide de techniques d'amplification moléculaire (NAAT).

- a) Format kit de prélèvement. Chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant un tube en plastique de forme conique avec bouchon à vis, contenant 1 ml ou 3 ml de milieu de transport et de conservation MSwab® et un petit sachet décollable stérile contenant un écouvillon pour le prélèvement des échantillons FLOQSwabs® doté d'une pointe floquée en fibres de nylon.
- b) Format tube seul. Un tube en plastique de forme conique avec bouchon à vis, contenant 1 ml, 2 ml ou 3 ml de milieu de transport et de conservation MSwab®.
- c) Format kit de prélèvement avec un écouvillon de nettoyage. Chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant un tube en plastique de forme conique avec bouchon à vis, contenant 2 ml de milieu de transport et de conservation MSwab® et un petit sachet décollable stérile contenant un écouvillon pour le prélèvement des échantillons FLOQSwabs® doté d'une pointe floquée en fibres de nylon et d'un sachet décollable stérile contenant un écouvillon de nettoyage à pointe large enroulée pour éliminer l'excédent de mucus vaginal.

Une fois l'échantillon prélevé à l'aide de l'écouvillon, il doit être inséré immédiatement dans le tube à essai MSwab® contenant le milieu de transport et de conservation. Les échantillons prélevés avec le MSwab®, à analyser selon des techniques de culture bactériennes ou virales, doivent être transportés directement au laboratoire, de préférence dans les 2 heures suivant le prélèvement^(1, 2, 7) afin de maintenir une viabilité optimale des micro-organismes. Si la livraison ou l'analyse immédiate de l'échantillon est retardée, les échantillons peuvent être réfrigérés entre 4 et 8°C ou stockés à température ambiante (20 à 25°C) et analysés dans les 48 heures suivant le prélèvement. Les études de viabilité bactérienne concernant *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 et ATCC® 6538 et *Staphylococcus aureus* (résistant à la métilicine) ATCC® 43300 et ATCC® 700698 démontrent la viabilité des micro-organismes testés jusqu'à 14 jours dans un environnement réfrigéré (4 à 8°C) ou 72 heures à température ambiante (20 à 25°C). Des études scientifiques indépendantes portant sur les systèmes de transport d'écouvillons démontrent que la viabilité de certaines bactéries est supérieure à température réfrigérée qu'à température ambiante⁽¹²⁻²¹⁾.

Si des échantillons viraux doivent être congelés, ils doivent l'être à -70°C

Les échantillons prélevés avec MSwab® pour détecter des acides nucléiques, bactériens ou viraux doivent être analysés dans un délai de 14 jours s'ils sont stockés à température ambiante (20 à 25°C), de 21 jours s'ils sont stockés à 4°C et de 6 mois s'ils sont stockés à -20°C.

RÉACTIFS

Formulation du milieu de transport MSwab®

Eau distillée
Solvant organique
Solution tampon
Albumine de sérum bovin

pH : 8,5 ± 0,20

MATÉRIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS

Matériels convenant à l'isolement et la culture de bactéries aérobies et anaérobies facultatives Gram positives.

Ces matériels comprennent les boîtes de culture ou tubes à essai et systèmes d'incubation. Consulter manuels du laboratoire pour les protocoles recommandés concernant la culture et l'identification de bactéries aérobies et anaérobies facultatives à partir d'écouvillons de prélèvement d'échantillons cliniques^(2, 4). Matériels convenant à l'isolement, la différenciation et la culture de virus. Ces matériaux comprennent des lignes de cellules de culture de tissus, les milieux pour culture tissulaire, les systèmes d'incubation et les instruments de lecture. Consulter les références appropriées concernant les protocoles recommandés pour l'isolement et l'identification des virus^(1, 7). Matériels convenant à l'extraction et à l'amplification des acides nucléiques pour les tests biologiques moléculaires. Bloc de chauffage et centrifuge pour méthodes d'extraction rapide. Consulter les manuels de référence du laboratoire pour l'identification et l'amplification des acides nucléiques sur échantillons cliniques prélevés sur écouvillon.

Dans le cas des méthodes d'extraction rapide, il est conseillé de transférer l'aliquote approprié de MSwab® (voir la section **Traitement des échantillons MSwab® pour essai moléculaire en laboratoire, Méthode B**) dans des tubes à essai Copan à billes de verre (code disponible séparément 2E013S50).

STOCKAGE DU PRODUIT

Ce produit est prêt à l'emploi et aucune préparation additionnelle n'est nécessaire. Il doit être stocké dans son emballage d'origine à une température de 5 à 25°C jusqu'à son utilisation. Ne pas surchauffer. Ne pas incuber ou congeler avant utilisation. Un stockage incorrect entraîne une perte d'efficacité. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption clairement indiquée sur l'emballage extérieur, sur chaque unité de prélèvement individuelle et sur l'étiquette du tube de transport d'échantillon.

PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET CONSERVATION D'ÉCHANTILLONS

Les échantillons prélevés pour examen microbiologique comprenant l'isolement de bactéries ou de virus doivent être prélevés et manipulés conformément aux manuels et recommandations publiés (7, 8, 4).

Pour maintenir une viabilité optimale des micro-organismes et l'intégrité des acides nucléiques, transporter les échantillons prélevés à l'aide de MSwab® directement au laboratoire, de préférence dans les 2 heures suivant le prélèvement (1, 2, 7). En cas de retard dans leur transfert ou leur traitement, les échantillons doivent être réfrigérés entre 4 et 8°C ou conservés à température ambiante (20 à 25°C) et traités dans les 48 heures. Les études de viabilité bactérienne concernant *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 et ATCC® 6538 et *Staphylococcus aureus* (résistant à la méticilline) ATCC® 43300 et ATCC® 700698 démontrent la viabilité des micro-organismes testés jusqu'à 14 jours à température réfrigérée (4 à 8°C) ou 72 heures à température ambiante (20 à 25°C). Si des échantillons viraux doivent être congelés, la température doit être de -70°C.

Les échantillons prélevés avec MSwab® pour analyse NAAT doivent être traités dans un délai de 14 jours s'ils sont stockés à température ambiante (-20 à 25°C), de 21 jours s'ils sont stockés à 4°C et de 6 mois s'ils sont stockés à -20°C.

Les essais de performance avec Copan MSwab® ont été effectués en utilisant des suspensions de souches de laboratoire sur écouvillon FLOQSwabs® associées au milieu. Les souches testées incluent: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (résistant à la méticilline) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, virus de la grippe A ATCC® VR-822, virus de la grippe B ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 et *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. Les tests de performance n'ont pas été réalisés avec des échantillons humains ou des matrices humaines.

Les exigences spécifiques en matière d'expédition et de manipulation des échantillons doivent respecter intégralement les règlements fédéraux et étatiques (34, 35, 36, 37). L'expédition d'échantillons au sein des établissements médicaux doit être conforme aux directives internes de l'établissement. Tous les échantillons doivent être traités dès leur réception au laboratoire.

MATÉRIEL FOURNI

Cinquante (50) unités de système Copan MSwab® par boîte et 6 boîtes x 50 unités par carton.

Le système de prélèvement, de transport et de conservation Copan MSwab® est fourni en trois formats:

- Format kit de prélèvement: chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant un tube en plastique de forme conique avec bouchon à vis, contenant 1 ml ou 3 ml de milieu de transport et de conservation MSwab® et un petit sachet décollable stérile contenant un écouvillon pour le prélèvement des échantillons FLOQSwabs® doté d'une pointe floquée en fibres de nylon (Fig. 2a).
- Format tube seul: un tube en plastique de forme conique avec bouchon à vis, contenant 1 ml, 2 ml ou 3 ml de milieu de transport et de conservation MSwab®.
- Format kit de prélèvement avec un écouvillon de nettoyage: chaque kit de prélèvement se compose d'un emballage contenant un tube en plastique de forme conique avec bouchon à vis, contenant 2 ml de milieu de transport et de conservation MSwab® et un petit sachet décollable stérile contenant un écouvillon pour le prélèvement des échantillons FLOQSwabs® doté d'une pointe floquée en fibres de nylon (Fig. 2a) et d'un sachet décollable stérile contenant un écouvillon de nettoyage à pointe large enroulée pour éliminer l'excédent de mucus vaginal (Fig. 2b).

Il existe deux types d'écouvillons de prélèvement: un écouvillon de taille standard avec pointe en nylon floqué destiné au prélèvement d'échantillons de sites anatomiques tels que la gorge, le vagin, les plaies, le rectum et les selles; une mini-pointe souple avec extrémité en nylon floqué pour le prélèvement nasopharyngé. Tous les écouvillons fournis avec MSwab® ont un point de rupture sur la tige de l'écouvillon repéré par une ligne de couleur.

Une fois l'échantillon prélevé sur le patient, le point de rupture pré-moulé facilite la rupture de application dans le tube à essai contenant le milieu de transport MSwab®. La forme spéciale des bouchons de capture et des tubes à essai permettent de capturer la tige de l'écouvillon une fois rompu et de fermer le bouchon (voir la Fig.1).

En vissant le bouchon sur le tube à essai, l'extrémité de la tige est placée dans le creux du bouchon. Lorsque le tube à essai est ouvert dans le laboratoire d'analyses, l'applicateur demeure fixé au bouchon et l'opérateur peut aisément retirer l'écouvillon du tube à essai pour effectuer les analyses microbiologiques en utilisant le bouchon comme poignée pour tenir l'applicateur d'écouvillon.

La fonctionnalité de bouchon de capture n'est garantie qu'en utilisant l'écouvillon floqué Copan de taille standard.

La fonctionnalité de bouchon de capture ne concerne pas l'écouvillon permasai (RÉF. 6E013N et 6E092N01).

Fig. 1 - Capture de la tige brisée de l'écouvillon dans le bouchon du tube à essai MSwab®



LIMITES

- Les conditions, la durée et le volume des échantillons prélevés pour culture sont des variables importantes pour obtenir des résultats fiables. Respecter les recommandations pour le prélèvement des échantillons (7, 8, 4).
- MSwab® ne doit pas être utilisé comme milieu d'enrichissement, de sélection ou de différenciation.
- Le milieu MSwab® ne contient pas d'antibiotiques. Les échantillons de patient susceptibles de contenir une charge élevée de contaminants bactériens peut nécessiter l'ajout d'antibiotiques dans le milieu de conservation cellulaire et de culture.
- Les tests de performance de Copan MSwab® ont été réalisés en utilisant des souches de laboratoire appliquées à un écouvillon en respectant les protocoles d'essai décrits dans la norme M40-A2 approuvée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (9). Les tests de performance n'ont pas été réalisés avec des échantillons humains.
- Les tests de performance de Copan MSwab® ont été réalisés en utilisant des écouvillons floqués Copan.
- Prendre les précautions nécessaires contre le risque biologique et utilisez des techniques aseptiques approuvées. L'utilisation du produit est réservée aux personnes formées et qualifiées.

AVERTISSEMENTS

- Lors de la manipulation d'échantillons cliniques en laboratoire, porter des gants et tous les autres dispositifs de protection nécessaires. Lors de la manipulation ou de l'analyse d'échantillons d'un patient, respecter le niveau 2 de biosécurité établi par le CDC ^(31, 32, 33, 34).
- Pour usage diagnostique in vitro seulement.
- Ne pas restériliser les écouvillons inutilisés.
- Ce produit est à usage unique exclusivement; toute réutilisation pourrait engendrer un risque d'infection et/ou des résultats erronés.
- Ne pas reconditionner.
- Non-approprié pour toute application autre que l'utilisation prévue.
- L'utilisation du produit avec un kit de diagnostic rapide ou avec des instruments de diagnostic doit être préalablement validée par l'utilisateur.
- Ne pas trop forcer, comprimer ou plier l'écouvillon lors du prélèvement d'échantillons sur le patient afin de ne pas briser la tige de l'écouvillon.
- Ne pas utiliser le même tube à essai pour plusieurs patients. Il en résultera un diagnostic incorrect. Avant le transport, vérifier que le bouchon à vis MSwab[®] est hermétiquement fermé.
- Ne pas courber l'écouvillon de prélèvement avant utilisation.
- Ne pas utiliser le milieu MSwab[®] pour pré-humidifier ou pré-mouiller l'applicateur de l'écouvillon avant de prélever l'échantillon ni pour humidifier les sites de prélèvement.
- Éviter le contact du milieu MSwab[®] avec la peau et les membranes muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau.
- Ne pas ingérer le milieu de transport.
- Respecter scrupuleusement les instructions d'utilisation.
- La manipulation du produit est réservée aux personnes formées et qualifiées.
- Respecter les précautions approuvées pour les risques biologiques et les techniques aseptiques.
- Le fait de congeler et de décongeler les échantillons de manière répétée peut nuire à la récupération d'organismes viables ^(8,35).
- Les conditions, les délais et le volume d'échantillons prélevés pour la culture sont des variables significatives dans l'obtention de résultats de culture fiables. Suivre les recommandations pour le prélèvement des échantillons.
- Il doit toujours être présumé que tous les échantillons contiennent des micro-organismes infectés et les plus extrêmes précautions sont par conséquent recommandées. Après utilisation, éliminer les tubes à essai et les écouvillons conformément aux procédures du laboratoire pour les déchets infectés. Respecter le niveau 2 de biosécurité établi par le CDC ^(31, 32, 33, 34). Éliminer les réactifs inutilisés, les déchets et les échantillons conformément aux réglementations locales.
- Ne pas utiliser le système Copan MSwab[®] en cas de (1) signes visibles de dommage ou de contamination du produit (p. ex. pointe ou tige de l'écouvillon brisée); (2) présence de fuites; (3) expiration de la date de péremption; (4) emballage de l'écouvillon ouvert; (5) tout autre signe de détérioration.
- En raison de la géométrie de la mini-pointe souple, l'écouvillon peut s'enrouler lorsqu'il est placé dans le tube à essai. Par conséquent, s'il est nécessaire de retirer l'écouvillon du tube, faire preuve de prudence et observer les précautions relatives aux risques biologiques appropriées pour protéger l'opérateur et l'environnement en cas d'éclaboussures.
- 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.

INSTRUCTIONS D'UTILISATION

Le système Copan MSwab[®] est prêt à l'emploi et aucune préparation additionnelle n'est nécessaire. Disponible dans les différentes configurations indiquées au Tableau 1.

RÉF.	Description du produit Copan MSwab [®]	Emballage
6E012N	Kit de prélèvement d'échantillon contenant: - Un tube à essai de 12 x 80 mm avec bouchon à vis contenant 1 ml de milieu de conservation et de transport MSwab [®] . - Écouvillon FLOQSwabs [®] de taille standard avec pointe en nylon floqué, stérile et emballé individuellement.	50 unités/boîte et 6 x 50 unités par carton
6E013N	Kit de prélèvement d'échantillon contenant: - Un tube à essai de 12 x 80 mm avec bouchon à vis contenant 1 ml de milieu de conservation et de transport MSwab [®] . - Mini-pointe souple avec extrémité en nylon floqué, stérile et emballée individuellement	50 unités/boîte et 6 x 50 unités par carton
6E092N01	Un seul tube de conservation et de transport: - tube à essai à fond rond de 16 x 100 mm avec bouchon à vis contenant 3 ml de milieu de conservation et de transport MSwab [®] . - écouvillon à mini-pointe souple avec nylon floqué, stérile et emballé individuellement	50 unités/boîte et 6 x 50 unités par carton
6E011N	Tube unique de transport et de conservation: - tube à essai de 12 x 80 mm de forme conique avec bouchon à vis contenant 1 ml de milieu de conservation et de transport MSwab [®] .	50 unités/boîte et 6 x 50 unités par carton
6U019N	Tube unique de transport et de conservation: - tube à essai de 12 x 80 mm de forme conique avec bouchon à vis contenant 2 ml de milieu de conservation et de transport MSwab [®] .	50 unités/boîte et 6 x 50 unités par carton
6E076N	Tube unique de transport et de conservation: - tube à essai de 12 x 80 mm de forme conique avec bouchon à vis contenant 3 ml de milieu de conservation et de transport MSwab [®] .	50 unités/boîte et 6 x 50 unités par carton

6E028N.MER	Kit de prélèvement d'échantillon à usage unique contenant: - tube à essai de 12 x 80 mm avec bouchon à vis contenant 2 ml de milieu de stockage et de transport MSwab®. - Écouvillon FLOQSwabs® de taille standard avec pointe en nylon floqué, stérile et emballé individuellement. - Écouvillon de nettoyage avec pointe large en rayonne, stérile et emballé individuellement.	50 unités/boîte et 6 x 50 unités par carton
------------	--	---

Tableau 1

Prélèvement d'échantillons

Le prélèvement de l'échantillon chez le patient doit être effectué correctement car c'est un point capital pour l'isolement et l'identification des micro-organismes infectieux. Se reporter aux manuels de référence publiés pour toute directive spécifique aux procédures de prélèvement des échantillons. (7, 2).

Pour MSwab® codes 6E012N, 6E013N et 6E092N01:

- Ouvrir l'emballage du kit MSwab®, sortir le tube à essai contenant le milieu et le sachet intérieur contenant l'écouvillon stérile.
- Sortir l'écouvillon stérile de son sachet (voir la Figure 2) et prélever l'échantillon clinique. L'opérateur doit toucher l'applicateur de l'écouvillon uniquement au-dessous de la ligne de rupture de couleur, comme illustré à la Figure 2, qui se trouve à l'extrémité opposée à la pointe en fibre de nylon. Pendant toute la durée de manipulation de l'applicateur de l'écouvillon, l'opérateur ne doit pas toucher la zone située sous la ligne de rupture de couleur (la zone entre la ligne et la pointe en nylon floqué de l'écouvillon) au risque de contaminer la tige de l'applicateur et ensuite la culture. Pour éviter le risque de contamination, veiller à ce que la pointe de l'écouvillon n'entre en contact qu'avec le site de prélèvement.
- Prélever l'échantillon du patient.
- Dévisser et ôter le bouchon du tube MSwab® en veillant à ne pas renverser le milieu.
- Après le prélèvement de l'échantillon, insérer l'écouvillon dans le tube à essai jusqu'à ce que le point de rupture pré-moulé atteigne le niveau de l'ouverture du tube.
Plier la tige de l'écouvillon de 180 degrés pour la casser au niveau du point de rupture rouge. Au besoin, tourner délicatement la tige de l'écouvillon jusqu'à la briser entièrement et détacher la partie supérieure de la tige (Figure 2).
- Éliminer le morceau de tige cassé de l'écouvillon dans un conteneur approuvé pour déchets médicaux.
- Remettre le bouchon sur le tube et le fermer hermétiquement.
- Noter le nom et les informations du patient sur l'étiquette du tube à essai ou appliquer l'étiquette d'identification du patient.
- Envoyer l'échantillon au laboratoire.

Pour le système MSwab® code 6E028N.MER:

- Ouvrir l'emballage du kit, sortir le tube à essai contenant le milieu de transport et les deux sachets intérieurs, l'un contenant l'écouvillon stérile et l'autre «l'écouvillon de nettoyage».
- L'utilisation de l'écouvillon de nettoyage est recommandée uniquement en cas de procédure de prélèvement d'échantillon endocervical. L'écouvillon de nettoyage doté d'une pointe large en fibre (voir la Figure 2.b) n'est utilisé que pour éliminer le mucus excédentaire présent au niveau du col de l'utérus et des membranes muqueuses avoisinantes. **Après utilisation, éliminez écouvillon dans un contenant approuvé pour les déchets sanitaires.**
Dans les cas de prélèvement autres que les échantillons endocervicaux, l'écouvillon de nettoyage ne doit pas être utilisé et doit être jeté.
- Pour le prélèvement des échantillons cliniques, suivre les instructions pour les codes 6E012N, 6E013N et 6E092N01 à partir de l'étape 2.

Pour les codes MSwab® 6E011N 6U019N et 6E076N:

- Après le prélèvement du patient à l'aide d'un écouvillon, dévisser et retirer le bouchon du tube à essai MSwab® en veillant à ne pas renverser le milieu de transport.
- Insérer l'écouvillon dans le tube à essai.
- Si l'écouvillon est doté d'un point de rupture, plier et casser l'écouvillon à hauteur du point de rupture en éloignant le tube du visage.
- Remettre le bouchon sur le tube et le fermer hermétiquement.
- Noter le nom et les informations du patient sur l'étiquette du tube à essai ou appliquer l'étiquette d'identification du patient.
- Envoyer l'échantillon au laboratoire.

Fig. 2 - Écouvillon de prélèvement avec ligne indiquant le point de rupture et la zone de manipulation de l'applicateur

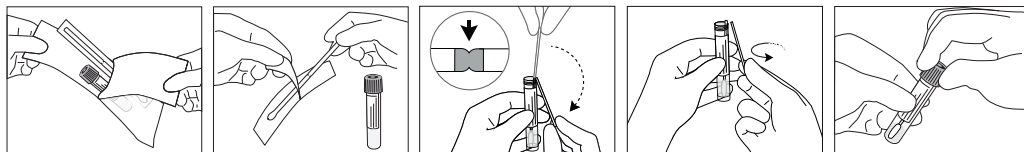


Fig. 2.a ÉCOUVILLON DE PRÉLÈVEMENT

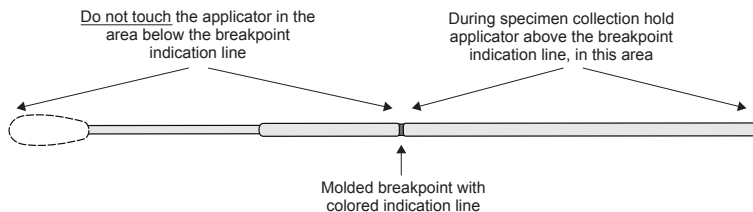
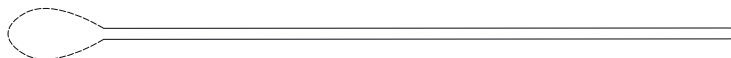


Fig 2.b ÉCOUVILLON DE NETTOYAGE



Traitement en laboratoire des échantillons MSwab® – Bactériologie

Les échantillons MSwab® doivent être traités pour la culture bactériologique en utilisant le milieu de culture et les techniques de laboratoire, qui dépendent du type d'échantillon et de l'organisme analysé. Pour le milieu de culture et les techniques recommandées pour l'isolement et l'identification des bactéries à partir d'échantillons cliniques par écouvillonnage, consulter les manuels et de microbiologie publiés⁽¹⁻⁶⁾.

L'analyse des échantillons sur écouvillon pour la présence de bactéries implique systématiquement l'utilisation de boîtes de Petri de contenant un milieu en gélose. La procédure d'inoculation des échantillons MSwab® dans les boîtes de Petri de gélose solide se déroule comme suit.

Remarque: Lors de la manipulation d'échantillons cliniques, porter des gants en latex et tous les autres dispositifs de protection nécessaires. Respecter les autres recommandations du niveau 2 de biosécurité établi par le CDC^(31, 32, 33, 34).

Format kit de prélèvement (avec ou sans écouvillon de nettoyage):

Passer le tube à essai MSwab® contenant l'échantillon prélevé avec l'écouvillon pendant 5 secondes au vortex et répartir uniformément et mettre en suspension l'échantillon du patient dans le milieu de transport.

1. Dévisser le bouchon MSwab® et retirer l'applicateur d'écouvillon.
2. Faire rouler d'un quart l'applicateur MSwab® sur la surface de la boîte de culture pour procéder à l'inoculum primaire.
3. S'il est nécessaire de cultiver l'échantillon de l'écouvillon dans une deuxième boîte de culture, remettre l'applicateur MSwab® dans le tube de milieu de transport pendant deux secondes pour absorber et recharger la pointe de l'applicateur de suspension de milieu de transport/échantillon du patient et répéter l'étape N° 3.
4. S'il est nécessaire d'inoculer des boîtes de culture supplémentaires, remettre l'applicateur MSwab® dans le tube de milieu de transport et recharger la pointe de l'applicateur de suspension de milieu de transport/échantillon du patient avant d'inoculer chaque boîte supplémentaire.

La procédure décrite ci-dessus utilise l'applicateur MSwab® comme baguette d'inoculation pour transférer la de suspension d'échantillon du patient dans le milieu de transport à la surface d'une boîte de culture pour créer l'inoculum primaire (voir la Fig 3).

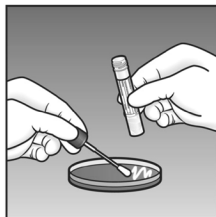
L'opérateur peut également mélanger le tube MSwab® contenant l'écouvillon au vortex pendant 5 secondes puis transférer des volumes de 100 µl de suspension sur chaque boîte de culture en utilisant un pipeteur volumétrique et des pointes de pipette stériles. Des techniques de laboratoire standard doivent ensuite être employées pour ensemercer l'inoculum primaire de l'échantillon du patient à la surface de la boîte de culture (voir la Fig 4).

Format tube seul:

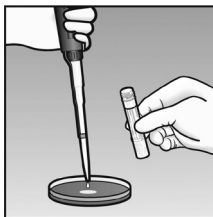
Passer le tube à essai MSwab® contenant l'échantillon pendant 5 secondes au vortex et répartir uniformément puis mettre en suspension l'échantillon du patient dans le milieu de transport.

Transférer des volumes minimum de 100 µl de suspension sur chaque boîte de culture en utilisant un pipeteur volumétrique et des pointes de pipette stériles. Des techniques de laboratoire standard doivent ensuite être employées pour ensemercer l'inoculum primaire de l'échantillon du patient à la surface de la boîte de culture (voir la Fig 4).

Fig. 3 - Procédures d'inoculation d'échantillons MSwab® de boîtes de Petri de gélose solide

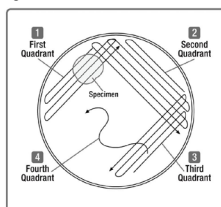


1. Utiliser l'écouvillon pour inoculer l'échantillon.



2. Utiliser un pipeteur et des pointes de pipette stériles pour inoculer au minimum 100 µl d'échantillon.

Cette procédure d'inoculation doit être considérée comme préférable si l'échantillon clinique est également analysée au moyen de techniques NAAT.

Fig. 4 - Procédure d'ensemencement d'échantillons MSwab® sur des boîtes de Petri de gélose pour isolement primaire ⁽³³⁾

Ensemencer un inoculum primaire d'échantillon MSwab® à la surface d'une boîte de culture en gélose adaptée dans le premier quart.

Utiliser une boucle bactériologique stérile pour ensemencer l'inoculum primaire à la surface des deuxième, troisième et quatrième quarts de la boîte de culture en gélose.

Préparation de coloration de Gram des échantillons MSwab®

L'analyse en laboratoire des échantillons cliniques par écouvillonnage prélevés sur certains sites du patient peuvent inclure systématiquement l'examen microscopique de préparations de coloration («dépôts directs») en utilisant la procédure de coloration de Gram. Cette méthode peut fournir des informations intéressantes aux médecins qui gèrent des patients porteurs de maladies infectieuses ⁽²²⁾. Dans de nombreux cas, une coloration de Gram peut faciliter le diagnostic ^(23, 27).

La coloration de Gram peut également contribuer au jugement de la qualité de l'échantillon et à la sélection du milieu de culture, en particulier en cas de flore mixte.

Les lames de microscope d'échantillons de patient transportées dans le système de transport Copan MSwab® peuvent être préparées pour analyse de coloration de Gram, comme indiqué ci-dessous, en échantillonnant un aliquote de suspension agitée au vortex de l'écouvillon ^(3, 4). L'échantillon transporté dans le milieu d'éluion MSwab® présente une suspension homogène en phase liquide. Il peut être uniformément déposé, permettant une lecture claire et aisée.

Remarque: Lors de la manipulation d'échantillons cliniques, porter des gants en latex et tous les autres dispositifs de protection nécessaires. Respecter les autres recommandations du niveau 2 de biosécurité établi par le CDC ^(31, 32, 33, 34).

1. Prendre une lame de microscope en verre propre, la placer sur une surface plane et inscrire une zone en utilisant une pointe diamant ou un marqueur pour verre similaire pour identifier l'emplacement de l'inoculum de l'échantillon. Remarque: une lame avec puits de 20 mm pré-marqué peut être utilisée.
2. Agiter au vortex le tube MSwab® contenant l'échantillon par écouvillonnage pendant 5 secondes pour libérer l'échantillon de la pointe de l'écouvillon puis répartir uniformément et mettre en suspension l'échantillon du patient dans le milieu.
3. Dévisser le bouchon MSwab® et, à l'aide d'une pipette stérile, transférer 1 ou 2 gouttes d'échantillon en suspension dans la zone inscrite sur la lame de verre. Remarque: environ 30 µl représentent une quantité de liquide appropriée pour une lame à puits pré-marqué de 20 mm de diamètre.

En cas d'échantillons sanguins ou plus épais, un soin particulier doit être apporté à la répartition d'une couche fine d'échantillon sur la lame. Les bactéries sont difficiles à détecter si l'échantillon contient de nombreux globules rouges et débris.

4. Laisser l'échantillon sécher sur la lame à température ambiante ou le placer dans un réchauffeur de lames électrique ou un incubateur dont la température ne dépasse pas 42°C.
5. Fixer les frottais au méthanol. La fixation au méthanol est recommandée car elle empêche la lyse des globules rouges sanguins, évite d'endommager les cellules hôtes et produit un fond plus propre ^(3, 4, 22).
6. Respecter les manuels de référence et les recommandations du laboratoire pour réaliser la coloration de Gram. Si des réactifs de coloration de Gram du commerce sont utilisés, il importe de respecter les instructions de la notice du fabricant pour la procédure de test de performance.

Pour des informations plus détaillées ou des recommandations relatives à la préparation de lames d'échantillon pour analyse microscopique, des informations sur les procédures de coloration de Gram et l'interprétation et les rapports d'analyse microscopique, consultez les manuels de référence de laboratoire publiés ^(1-5, 22-27).

Traitement en laboratoire des échantillons MSwab® – Virologie

La survivance des HSV 1 et HSV 2 dépend de nombreux facteurs, dont le type et la concentration des micro-organismes, la durée du transport et la température de stockage. Pour préserver une viabilité optimale, les échantillons doivent être transportés directement au laboratoire, de préférence dans les 2 heures suivant le prélèvement ^(1, 2, 7, 29). En cas de retard de livraison ou de traitement, les échantillons prélevés avec le système de prélèvement, transport et conservation Copan MSwab® doivent être réfrigérés entre 4 et 8°C ou stockés à température ambiante (20 à 25°C) et analysés dans les 48 heures. Si les échantillons doivent être congelés, la température doit être de -70°C.

Dans des études de transport et de stockage simulés, le système Copan MSwab® a démontré sa capacité à maintenir la viabilité de HSV 1 et HSV 2 à température réfrigérée (4 à 8°C) et à température ambiante (20 à 25°C) jusqu'à 48 heures. Sur la base des études de performance menées par Copan et par des publications scientifiques indépendantes, la viabilité de certains micro-organismes est supérieure à température réfrigérée qu'à température ambiante ^(12-21, 29).

Les échantillons MSwab® doivent être traités pour la culture virologique en utilisant les techniques de laboratoire et les lignées cellulaires recommandées qui dépendent du type d'échantillon et de le micro-organisme analysé. Pour les fioles recommandées et les techniques d'isolement et d'identification des HSV 1 et HSV 2 à partir d'échantillons cliniques par écouvillonnage, consulter les manuels et les recommandations de virologie publiés ^(1-6, 29, 30).

L'analyse de la culture d'échantillons sur écouvillon pour la présence de HSV 1 et HSV 2 implique systématiquement l'utilisation de cultures de cellules en fioles. La procédure pour l'inoculation des spécimens MSwab® en fiole est décrite ci-dessous.

REMARQUE: Porter des gants en latex et d'autres protections conformément aux règles de précautions universelles lors de la manipulation des échantillons cliniques. Respecter les autres recommandations BSL 2.

Format kit de prélèvement:

1. Agiter à l'aide d'un vortex pendant 5 secondes le tube MSwab® contenant l'échantillon sur écouvillon pour libérer l'échantillon de la pointe de l'écouvillon puis répartir uniformément et mettre en suspension l'échantillon du patient dans le milieu de transport liquide.
2. Dévisser le bouchon MSwab® et retirer l'applicateur d'écouvillon.
3. Transférer des volumes de 200 µl de la suspension dans la fiole et continuer conformément à la procédure interne du laboratoire.
REMARQUE: Un échantillon de patient qui peut contenir une charge élevée de contaminants bactériens peut nécessiter des antibiotiques supplémentaires dans le milieu de conservation.
4. Procéder selon les techniques appropriées de détection de virus.

Format tube seul:

1. Agiter le tube MSwab® à l'aide d'un vortex pendant 5 secondes.
2. Dévisser le bouchon MSwab® et transférer des volumes de 200 µl de la suspension dans la fiole et continuer conformément à la procédure interne du laboratoire.
REMARQUE: Un échantillon de patient qui peut contenir une charge élevée de contaminants bactériens peut nécessiter des antibiotiques supplémentaires dans le milieu de conservation.
3. Procéder selon les techniques appropriées de détection de virus.

Traitement en laboratoire des échantillons MSwab® pour analyse moléculaire

Les échantillons reçus en laboratoire pour la détection des acides nucléiques doivent être traités dès réception. En cas de retard, se reporter aux conditions de stockage des échantillons appropriées.

REMARQUE: Utiliser des gants en latex et autres moyens de protection généraux pour manipuler les échantillons cliniques. Respecter le niveau 2 de biosécurité (BSL) établi par le CDC ^(31, 32, 33, 34).

En pratiquant des méthodes moléculaires, il convient de faire preuve de prudence afin d'éviter tout transfert de contamination. La séparation spatiale des zones de travail et un flux de travail unidirectionnel sont essentiels pour éviter tout transfert d'amplicon ⁽³⁵⁾.

La formulation du milieu MSwab® est conçue pour être compatible avec les mélanges PCR Master; il convient de ce fait aux tests NAAT sans étape d'extraction et de purification standard.

Deux méthodes différentes (A et B) peuvent être appliquées au traitement d'échantillons MSwab®.

A) Méthode d'extraction standard

1. Agiter le tube à essai MSwab® dans un vortex pendant 10 secondes.
2. Dévisser le bouchon (REMARQUE: pour le format tube seul, passer au point 4) et, en le tenant entre le pouce et l'index, centrifuger pour extraire le maximum de fluide de la pointe.
3. Jeter l'écouvillon.
4. Transférer la quantité appropriée d'échantillon (p. ex. 200 µl) dans un tube d'extraction en respectant les procédures de laboratoire normales. Pour les codes 6E013N et 6E092N01 qui ne comportent pas la fonctionnalité de capture de bouchon, utiliser une pince à épiler pour extraire l'applicateur du tube. Faire preuve de prudence et observer les précautions relatives au risque biologique pour protéger l'opérateur et l'environnement en cas d'éclaboussure.
5. Continuer conformément aux procédures d'extraction et d'amplification des kits utilisés.

Le système MSwab® a été validé en utilisant les méthodes d'extraction suivantes: membrane au gel de silice (Qiagen, Macherey & Nagel) et billes magnétiques (easyMAG, Qiasymphony, Magnapure). D'autres méthodes d'extraction sont applicables après validation par l'utilisateur.

B) Méthode d'extraction rapide

Une étape de choc thermique est suggérée pour lyser les échantillons destinés à la détection virale.

1. Agiter le tube à essai original de l'échantillon MSwab® dans un vortex pendant 10 secondes.
2. À l'aide d'une micropipette, transférer 200 µl de l'échantillon MSwab® dans un micro-tube à essai contenant des billes de verre (2E013S50: tube à essai Copan avec billes de verre, disponibles séparément) et agiter dans un vortex pendant 10 secondes. Stocker l'échantillon MSwab® pour culture ou tests supplémentaires.
3. Chauffer le micro-tube à essai en réglant le thermostat entre 98 et 100°C pendant au moins:
 - 3 minutes pour les VIRUS
 - 10 minutes POUR LES BACTÉRIES GRAM POSITIVES
 - 5 minutes POUR LES BACTÉRIES GRAM NÉGATIVES
4. Refroidir le tube à essai à température ambiante pendant 5 minutes
5. Centrifuger le micro-tube à essai 10000xg pendant 2 minutes pour déposer les débris cellulaires.
6. Transférer un aliquote de l'échantillon MSwab® traité dans le mélange principal et procéder à l'étape d'amplification conformément à la procédure du kit d'amplification.

La méthode d'extraction rapide décrite ci-dessus a été testée avec les kits PCR en temps réel R-Biopharm RIDA®GENE, avec le kit de détection de typage en temps réel Seegene Anyplex GrippeA/B et avec les kits PCR en temps réel Genesis par Primer Design en comparaison avec la méthode d'extraction standard.

D'autres kits d'amplification PCR peuvent également être applicables avec validation préalable. Les souches testées incluent: B. pertussis (ATCC® 8467), S. aureus (résistant à la métilicine) (ATCC® 43300), E. coli O157-H7 (ATCC® 700728), S. tiphimurium (ATCC® 14028), C. difficile (ATCC® 9689), virus de la grippe A (ATCC® VR-822), virus de la grippe B (ATCC® VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC® 43069) et Chlamydia trachomatis (ATCC® VR880). Les tests n'ont pas été réalisés avec des matrices humaines. Les résultats obtenus dépendront, dans une large mesure, du prélèvement approprié et adéquat des échantillons, ainsi que du transport et du traitement en laboratoire dans les délais nécessaires.

CONTRÔLE QUALITÉ

Les applicateurs MSwab® sont testés pour s'assurer qu'ils ne sont pas toxiques pour les bactéries. Le milieu et les applicateurs MSwab® sont testés pour s'assurer qu'ils ne sont pas toxiques pour les lignées cellulaires utilisées pour la culture de HSV 1 et HSV 2. Le milieu de transport MSwab® est testé pour la stabilité du pH et l'absence d'inhibiteurs avec d'amplification directe d'acides nucléiques⁽⁹⁾. MSwab® est testé par contrôle qualité avant distribution pour sa capacité à conserver la viabilité des bactéries aérobies Gram positives et anaérobies facultatives ainsi que les virus HSV à température ambiante (20 à 25°C) pendant des durées spécifiées. Les procédures de contrôle qualité des dispositifs de transport d'échantillons de microbiologie doit être effectué en utilisant les méthodes décrites dans la norme M40-A2 du Clinical Laboratory Standard Institute et autres publications⁽⁹⁾. Si le contrôle qualité révèle des anomalies, les résultats des patients ne doivent pas être faire l'objet d'un rapport.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus dépendent dans une large mesure du prélèvement approprié et adéquat des échantillons, ainsi que du transport rapide et du traitement adéquat en laboratoire.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Récupération bactérienne

Les procédures de test employées pour déterminer la performance en termes de viabilité bactérienne étaient basés sur les méthodes de contrôle qualité décrites dans la norme M40-A2 du Clinical and Laboratory Standards Institute⁽⁹⁾.

L'utilisation prévue du système MSwab® est limitée aux bactéries aérobies Gram positives et anaérobies facultative et aux HSV 1 et HSV 2. Par conséquent, son champ d'application est plus restreint que celui d'autres dispositifs. C'est pourquoi les études de récupération bactérienne ont été menées dans les conditions de transport et de stockage simulées décrites et définies dans la norme M40-A2 du CLSI, contrôle qualité des systèmes de transport microbiologiques: Norme approuvée et n'ont inclut que les souches aérobies Gram positives et anaérobies facultatives du Groupe 1 au paragraphe 7.11.1 du document CLSI M40-A2, en particulier:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427
Copan a inclus en sus le test de micro-organismes aérobies Gram positives et anaérobies facultative, pertinent sur le plan clinique mais non exigé par la norme CLSI M40-A2. Les souches bactériennes spécifiques utilisées dans ces études sont indiquées ici:	
Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Groupe B Strep)	ATCC® 13813
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (résistant à la métilicine)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (résistant à la métilicine)	ATCC® 700698

Toutes les cultures bactériennes étaient ATCC® (American Type Culture Collection) et ont été obtenues commercialement.

La sélection de ces organismes reflète également les bactéries aérobies Gram positives et anaérobies facultative normalement rencontrées dans les échantillons prélevés et analysés dans un laboratoire de microbiologie clinique type.

Les études de viabilité bactérienne ont été réalisées sur le Copan MSwab® à deux plages de température différentes, 4 à 8°C et 20 à 25°C, correspondant respectivement à la température réfrigérée et ambiante. Les écouvillons accompagnant chaque système de transport ont été inoculés en triplets avec 100 µl d'une suspension d'organisme à des concentrations spécifiques. Les écouvillons ont été ensuite placés dans leurs tubes de milieu de transport respectifs et conservés 0, 24 et 48 heures. Aux intervalles de temps appropriés, chaque écouvillon a été traité conformément à la méthode rouleau-boîte ou élution d'écouvillon.

Des études de viabilité bactérienne supplémentaires portant sur *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 et ATCC® 6538 et *Staphylococcus aureus* (résistant à la méticilline) ATCC® 43300 et ATCC® 700698 ont été réalisées sur Copan MSwab® à deux plages de température, de 4 à 8°C et 20 à 25°C, correspondant respectivement à la température réfrigérée et ambiante.

Les écouvillons accompagnant le système de transport ont été inoculés en triplets avec 100 µl d'une suspension d'organisme à des concentrations spécifiques. Les écouvillons ont été ensuite placés dans leurs tubes de milieu de transport respectifs et:

Pour les études réalisées entre 4 et 8°C les tubes MSwab® inoculés ont été conservés pendant 0 h, 10 jours et 14 jours. Aux intervalles de temps appropriés, chaque MSwab® a été traité conformément à la méthode rouleau-boîte.

Pour les études réalisées entre 20 et 25°C les tubes MSwab® inoculés ont été conservés pendant 0 h et 72 h. Aux intervalles de temps appropriés, chaque MSwab® a été traité conformément à la méthode rouleau-boîte.

Les études de croissance bactérienne excessive ont été réalisées sur Copan MSwab® entre 4 et 8°C, correspondant à une température réfrigérée. Les écouvillons accompagnant chaque système de transport ont été inoculés en triplets avec 100 µl d'une suspension d'organisme à des concentrations spécifiques. Les écouvillons ont été ensuite placés dans leurs tubes de milieu de transport respectifs et conservés 0 et 48 heures. Aux intervalles de temps appropriés, chaque écouvillon a été traité conformément à la méthode rouleau-boîte.

Les études de croissance bactérienne excessive ont été réalisées en utilisant *Pseudomonas aeruginosa*.

Les études d'infectiosité virale ont été réalisées en utilisant HSV 1 et HSV 2. Les écouvillons accompagnant chaque système de transport ont été directement inoculés en triplets avec 100 µl de suspension virale. Les écouvillons ont été ensuite placés dans leurs tubes pour milieu de transport respectifs et conservés 0, 24 et 48 heures à 4°C ou à température ambiante (20-25°C). À l'intervalle de temps approprié, chaque écouvillon a été agité au vortex, retiré de son tube de milieu de transport, puis des aliquotes de 200 µl de cette suspension ont été inoculés dans des fioles. Toutes les cultures ont été traitées par la technique de culture de laboratoire standard et examinées après un temps d'incubation spécifié. L'infectiosité virale a été déterminée par comptage de foyers fluorescents.

Les virus évalués étaient:

Virus Herpès simplex de type 1 (HSV 1) ATCC® VR-539

Virus Herpès simplex de type 2 (HSV 2) ATCC® VR-734.

Conformément à la norme M40-A2 du Clinical and Laboratory Standards Institute, la performance de viabilité est mesurée pour chaque micro-organisme à 48 heures et comparée avec les critères d'acceptation.

Dans les deux études de performance, rouleau-boîte et élution d'écouvillon, le système Copan MSwab® a été capable de maintenir une récupération acceptable de tous les organismes évalués, à température réfrigérée (4 à 8°C) comme à température ambiante (20 à 25°C). La récupération acceptable pour la méthode rouleau et boîte est définie à ≥ 5 CFU après le temps de pause spécifié pour la dilution spécifique produisant des comptages de boîte au temps zéro les plus proches de 300 CFU. La récupération acceptable pour la méthode d'élution d'écouvillon est définie au maximum à $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) de déclin de CFU entre le temps zéro du comptage de CFU et les CFU des écouvillons après la période de maintien spécifiée.

Des points temporels supplémentaires ont été testés pour *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 et ATCC® 6538 ainsi que *Staphylococcus aureus* (résistant à la méticilline) ATCC® 43300 et ATCC® 700698.

Dans les études de viabilité selon la méthode rouleau-boîte, le système Copan MSwab® a été capable de maintenir une récupération acceptable de tous les micro-organismes évalués, à température réfrigérée (4 à 8°C) pendant 14 jours comme à température ambiante (20 à 25°C) pendant 72 heures. La récupération acceptable pour la méthode rouleau et boîte est définie à ≥ 5 CFU après le temps de pause spécifié pour la dilution spécifique produisant des comptages de boîte au temps zéro les plus proches de 300 CFU.

Les études de performance de viabilité incluent également l'évaluation de la croissance bactérienne excessive à températures réfrigérées (4 à 8°C). Pour la méthode d'élution d'écouvillon, une évaluation de croissance excessive est effectuée sur toutes les espèces de bactéries testées au point temporel de 48 heures de maintien. L'évaluation de croissance excessive utilisant la méthode d'élution d'écouvillon est définie comme supérieure à une augmentation de $1 \log_{10}$ des CFU entre le comptage de CFU au temps zéro et le point temporel de maintien. Pour la méthode rouleau-boîte, une évaluation de croissance excessive est réalisée avec une analyse séparée dans laquelle les écouvillons sont dosés avec 100 µl contenant 102 CFU de culture de *Pseudomonas aeruginosa*. La croissance excessive dans ces conditions est définie comme supérieure à une augmentation de $1 \log_{10}$ des CFU entre les CFU au temps zéro et au point temporel de 48 heures de maintien.

Le système Copan MSwab® n'a démontré aucune croissance excessive basée sur les critères d'acceptation décrits dans la norme M40-A2 du Clinical and Laboratory Standards Institute.

Le système Copan MSwab® a été en mesure de maintenir l'infectiosité des virus suivants pendant 48 heures à température ambiante (20 à 25°C) et au réfrigérateur (2 à 8°C) dans les conditions de l'essai décrites ci-dessus : Virus Herpès Simplex de type 1, virus Herpès Simplex de type 2.

Conservation des acides nucléiques

Les échantillons prélevés à l'aide de MSwab® et à analyser en utilisant des techniques d'amplification des acides nucléiques doivent être traités dans un délai de 14 jours de l'échantillonnage lorsqu'ils sont stockés à température ambiante (20 à 25°C) de 21 jours lorsqu'ils sont stockés à 4°C et de 6 mois s'ils sont stockés à -20°C.

Les tests de performance avec Copan MSwab® ont été réalisés en utilisant des suspensions de souches de laboratoire placées sur l'écouvillon FLOQSwabs® associé au milieu. Les souches testées incluent : *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (résistant à la méticilline) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, virus de la grippe A ATCC® VR-822, virus de la grippe B ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 et *C. trachomatis* ATCC® VR880. Les tests de performance n'ont pas été réalisés avec des échantillons et/ou matrices d'origine humaine.

Les résultats obtenus dépendent principalement du prélèvement approprié et adéquat des échantillons, ainsi que du transport rapide et du traitement adéquat en laboratoire.

TABLEAU DES SYMBOLES

Voir le tableau des symboles à la fin de la notice d'utilisation.

Sistema de colheita, transporte e conservação Copan MSwab® para aplicações moleculares e de cultura

Instruções de utilização

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O sistema MSwab® é utilizado para a colheita, transporte e conservação de amostras clínicas desde o local de colheita até ao laboratório de testes. No laboratório, as amostras colhidas no sistema MSwab® podem ser analisadas utilizando procedimentos clínicos padrão para:

- cultura bacteriana de microrganismos gram-positivos aeróbios e anaeróbios facultativos
- cultura viral de vírus HSV 1 e HSV 2
- Detecção de ácido nucleico de bactérias e vírus.

SUMÁRIO E FUNDAMENTOS

Um dos procedimentos de rotina no diagnóstico das infeções bacterianas contempla a colheita e o transporte em segurança das amostras em zaragatoas. Isto pode ser realizado utilizando o sistema de colheita, transporte e conservação MSwab® da Copan. O meio foi projetado para manter a viabilidade das bactérias gram-positivas aeróbias e anaeróbias facultativas e dos vírus HSV 1 e HSV 2 durante o transporte para o laboratório de testes.

Além disso, o Copan MSwab® permite a conservação de ácidos nucleicos de agentes patogénicos a identificar através de técnicas de amplificação molecular (NAAT).

O sistema de colheita, transporte e conservação Copan MSwab® é fornecido em três formatos diferentes:

- a) Formato de kit de colheita. Cada kit de colheita consiste numa embalagem com um tubo de ensaio com tampa roscada e fundo cónico que contém 1 ml ou 3 ml de meio de transporte e conservação MSwab®, assim como uma bolsa estéril de abertura fácil que contém uma zaragatoa FLOQSwabs® para a colheita de amostras com uma extremidade flocada com fibra de nylon.
- b) Formato apenas de tubo de ensaio. Um tubo de ensaio com tampa roscada e fundo cónico com 1 ml, 2 ml ou 3 ml de meio de transporte e conservação MSwab®.
- c) Formato de kit de colheita com zaragatoa de limpeza. Cada kit de colheita consiste numa embalagem com um tubo de ensaio com tampa roscada e fundo cónico que contém 2 ml de meio de transporte e conservação, assim como uma bolsa estéril de abertura fácil que contém uma zaragatoa FLOQSwabs® para a colheita de amostras com uma extremidade flocada com fibra de nylon e uma bolsa estéril de abertura fácil com uma zaragatoa de limpeza de ponta larga em fibra envolvida para a remoção do muco vaginal em excesso.

Após a colheita da amostra utilizando a zaragatoa, esta deve ser colocada imediatamente no tubo de ensaio MSwab®, que contém meio de transporte e conservação. As amostras colhidas com o MSwab®, a serem analisadas utilizando técnicas de cultura bacteriana ou viral, devem ser transportadas diretamente para o laboratório, de preferência num período de 2 horas após a colheita^(1, 2, 7) para manter a viabilidade ideal dos microrganismos. Se a entrega da amostra ao laboratório ou a análise não ocorrer imediatamente e tiver de ser adiada, as amostras podem ser refrigeradas a 4 - 8°C ou guardadas à temperatura ambiente (20-25°C) e analisadas num período máximo de 48 horas. Os estudos da viabilidade bacteriana do *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 e ATCC® 6538 e do *Staphylococcus aureus* (resistente à meticilina) ATCC® 43300 e ATCC® 70698 mostram que a viabilidade dos microrganismos testados persiste durante 14 dias em ambiente refrigerado (4-8°C) ou durante 72 horas à temperatura ambiente (20-25°C). Estudos científicos independentes sobre sistemas de transporte de zaragatoas demonstram que a viabilidade de algumas bactérias é maior se forem submetidas a uma temperatura refrigerada em comparação com a temperatura ambiente^(12- 21). Se for necessário congelar as amostras virais, estas devem ser congeladas a -70°C.

As amostras colhidas com o MSwab® para a deteção de ácidos nucleicos, bacterianos ou virais devem ser testadas num período de 14 dias quando conservadas à temperatura ambiente (20-25°C), num período de 21 dias quando conservadas a 4°C e num período de 6 meses quando conservadas a -20°C.

REAGENTES

Formulação do meio de transporte MSwab®

Água destilada
Solvente orgânico
Solução tampão
Albumina de soro bovino

pH: 8,5 ± 0,20

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

Materiais indicados para o isolamento e cultura de bactérias gram-positivas aeróbias e anaeróbias facultativas.

Estes materiais incluem placas de meio de cultura ou tubos de ensaio e sistemas de incubação. Consulte os manuais do laboratório para obter informações sobre os protocolos recomendados relativos às técnicas de cultura e identificação das bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas das zaragatoas para amostras clínicas^(2, 4). Materiais adequados para o isolamento, diferenciação e cultura de vírus. Estes materiais incluem linhas de células para a cultura de tecidos, meio de cultura para tecidos, sistemas de incubação e instrumentos de leitura. Consulte as referências apropriadas para os protocolos recomendados para o isolamento e a identificação de vírus^(1, 7). Materiais indicados para a extração e amplificação de ácidos nucleicos para testes de biologia molecular. Bloco de aquecimento e centrífuga para métodos de extração rápida. Consulte os manuais de laboratório de referência para identificação e amplificação de ácidos nucleicos em amostras clínicas de zaragatoas.

No caso de métodos de extração rápida, sugere-se que transfira a fração apropriada de MSwab® (consulte a secção **Processamento das amostras MSwab® para análises moleculares em laboratório, Método B**) para tubos Copan com esferas de vidro (código disponível separadamente 2E013S50).

CONSERVAÇÃO DO PRODUTO

O produto está pronto a ser utilizado e não necessita de qualquer preparação adicional. Deve ser conservado no seu recipiente original a 5-25°C até ao momento da utilização. Não sobreaquecer. Não incubar ou congelar antes de utilizar. Uma conservação incorreta terá como consequência a perda de eficácia. Não utilizar após o prazo de validade impresso de forma clara na embalagem exterior e em cada unidade de colheita individual, bem como na etiqueta do tubo de transporte da amostra.

COLHEITA, TRANSPORTE E CONSERVAÇÃO DA AMOSTRA

As amostras colhidas para estudos microbiológicos que envolvem o isolamento de bactérias ou vírus devem ser colhidas e manuseadas em conformidade com os manuais e as orientações publicadas (7, 8, 4).

Para manter a viabilidade ideal dos microrganismos e a integridade dos ácidos nucleicos, transporte as amostras colhidas com o MSwab® diretamente para o laboratório, de preferência num período de 2 horas após a colheita (1, 2, 7). Se a entrega imediata ou o processamento sofrerem qualquer atraso, as amostras devem ser refrigeradas a uma temperatura entre 4 – 8°C ou conservadas à temperatura ambiente (20 – 25°C) e processadas num período máximo de 48 horas. Os estudos da viabilidade bacteriana do *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 e ATCC® 6538 e do *Staphylococcus aureus* (resistente à meticilina) ATCC® 43300 e ATCC® 700698 mostram que a viabilidade dos microrganismos testados persiste durante 14 dias em ambiente refrigerado (4 - 8°C) ou durante 72 horas à temperatura ambiente (20 – 25°C). Se for necessário congelar amostras virais, estas devem ser congeladas a -70°C.

As amostras colhidas com o MSwab® e a analisar com NAAT devem ser testadas num período de 14 dias quando conservadas à temperatura ambiente (20-25°C), num período de 21 dias quando conservadas a 4°C e num período de 6 meses quando conservadas a -20°C.

O teste de desempenho com o Copan MSwab® foi realizado utilizando suspensões de estirpes laboratoriais enriquecidas na FLOQSwabs® associada ao meio de cultura. As estirpes testadas incluem: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (resistente à meticilina) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. typhimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, vírus da Influenza A ATCC® VR-822, vírus da Influenza B ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 e *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. Os ensaios de desempenho não foram realizados com amostras clínicas humanas ou matrizes humanas.

O transporte e o manuseamento das amostras deve verificar-se em total conformidade com as legislações nacionais e federais (34, 35, 36, 37). O transporte de amostras dentro das instituições médicas deve seguir as diretrizes internas próprias da instituição. Aconselha-se o processamento das amostras imediatamente após a sua chegada ao laboratório.

MATERIAIS FORNECIDOS

Cada embalagem inclui cinquenta (50) unidades de Copan MSwab® System e cada caixa inclui 6 embalagens de 50 unidades.

O sistema de colheita, transporte e conservação Copan MSwab® é fornecido em três formatos diferentes:

- Formato do kit de colheita: cada kit de colheita consiste numa embalagem com um tubo de ensaio com tampa roscada e fundo cónico que contém 1 ml ou 3 ml de meio de transporte e conservação MSwab®, assim como uma bolsa estéril de abertura fácil que contém uma zaragatoa FLOQSwabs® para a colheita de amostras com uma extremidade flocada com fibra de nylon (Fig.2a).
- Formato do tubo de ensaio: um tubo de ensaio com tampa roscada e fundo cónico com 1 ml, 2 ml ou 3 ml de meio de transporte e conservação MSwab®.
- Formato de kit de colheita com zaragatoa de limpeza: cada kit de colheita consiste numa embalagem com um tubo de ensaio com tampa roscada e fundo cónico que contém 2 ml de meio de transporte e conservação, assim como uma bolsa estéril de abertura fácil que contém uma zaragatoa FLOQSwabs® para a colheita de amostras com uma extremidade flocada com fibra de nylon (Fig. 2a) e uma bolsa estéril de abertura fácil com uma zaragatoa de limpeza de ponta larga em fibra envolvida para a remoção do muco vaginal em excesso (Fig. 2b).

Há dois tipos de zaragatoas de colheita de amostras: uma zaragatoa normal com um extremidade flocada de nylon que se destina a ser usada na colheita de amostras de regiões anatómicas tais como a garganta, a vagina, feridas, o reto e fezes; uma miniponta flexível com ponta flocada para fazer uma colheita nasofaríngea. Todas as zaragatoas flocadas fornecidas com o MSwab® possuem um ponto de quebra na haste da zaragatoa, assinalado por uma linha colorida.

Depois de colher a amostra no doente, o ponto de quebra pré-marcado facilita a quebra do aplicador para o interior do tubo de ensaio com o meio de transporte MSwab®. O formato especial das tampas de retenção e dos tubos de ensaio permite capturar a haste da zaragatoa imediatamente após a respetiva quebra e o fecho da tampa (ver Fig.1).

O enrocamento da tampa do tubo de ensaio move a extremidade da haste da zaragatoa para a cavidade da tampa. Quando o tubo de ensaio é aberto no laboratório de ensaio, o aplicador permanece preso à tampa e o operador pode remover facilmente a zaragatoa do tubo de transporte e efetuar as análises microbiológicas utilizando a tampa para segurar no aplicador da zaragatoa.

Só é possível garantir a função da tampa de retenção com a utilização da zaragatoa normal flocada da Copan.

A função da tampa de retenção não se aplica à zaragatoa pernasal (REF. 6E013N e 6E092N01).

Fig. 1 - Captura da haste quebrada da zaragatoa na tampa do tubo de ensaio MSwab®



LIMITAÇÕES

- As condições, os tempos e o volume das amostras colhidas para a cultura são variáveis significativas para obter resultados de cultura fáveis. Siga as diretrizes recomendadas para a colheita das amostras (7, 8, 4).
- O MSwab® não pode ser utilizado como meio de enriquecimento, seletivo ou diferencial.

- O meio MSwab® não contém antibióticos. As amostras do doente, que podem conter uma carga elevada de contaminantes bacterianos, podem requerer que sejam adicionados antibióticos ao meio de conservação e de cultura das células.
- Os testes de desempenho do Copan MSwab® foram realizados utilizando estirpes laboratoriais aplicadas numa zaragatoa de acordo com os protocolos de teste descritos na norma aprovada (Approved Standard) M40-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (9). Os testes de desempenho não foram realizados utilizando amostras humanas.
- Os testes de desempenho do Copan MSwab® foram realizados com zaragatoas flocadas Copan.
- Adote as precauções inerentes ao risco biológico e utilize técnicas de assepsia aprovadas. Este produto deve ser utilizado apenas por pessoal devidamente formado e qualificado.

ADVERTÊNCIAS

- Utilizar sempre luvas e outros equipamentos de proteção considerados necessários para manusear amostras clínicas no laboratório. Ao manusear ou analisar amostras de um doente, cumpra o Nível 2 de Segurança Biológica estabelecido pelo CDC (31, 32, 33, 34).
- Para utilização em diagnóstico in vitro.
- Não reesterilizar as zaragatoas não usadas.
- Este produto é de utilização única. A sua reutilização pode causar risco de infeção e/ou resultados imprecisos.
- Não reembalar.
- Não adequado para outras aplicações que não as previstas.
- A utilização deste produto com um kit de diagnóstico rápido ou com instrumentos de diagnóstico deve ser previamente validada pelo utilizador.
- Não aplicar força excessiva, pressão ou flexão ao colher amostras dos doentes com a zaragatoa pois tal pode resultar na quebra da haste da zaragatoa.
- Não utilizar o mesmo tubo de ensaio para mais de um doente. Poderá resultar num diagnóstico incorreto. Antes do transporte, certifique-se de que a tampa de rosca do MSwab® está bem fechada.
- Não dobrar a zaragatoa de colheita antes da utilização.
- Não utilizar o meio de cultura Mswab® para humedecer ou molhar previamente o aplicador da zaragatoa antes de colher a amostra nem para humedecer os locais de amostragem.
- Evitar o contacto do meio MSwab® com a pele e as membranas mucosas. Se ocorrer contacto, enxaguar com água abundante.
- Não ingerir o meio de transporte.
- Seguir atentamente as instruções de utilização.
- O produto só deve ser manuseado por pessoal qualificado.
- Observar as precauções de risco biológico aprovadas e as técnicas assépticas.
- O congelamento e descongelamento repetidos das amostras podem reduzir a recuperação dos microrganismos viáveis (8,35).
- A condição, o momento e o volume de amostras colhidas para cultura são variáveis significativas na obtenção de resultados de cultura fiáveis. Seguir as orientações recomendadas para a colheita de amostras.
- Deve-se sempre presumir que todas as amostras contêm microrganismos infecciosos, recomendando-se, portanto, o máximo de cuidado. Após a utilização, eliminar os tubos e as zaragatoas de acordo com as boas práticas laboratoriais relativas a resíduos infecciosos. Respeitar o Nível 2 de Segurança Biológica estabelecido pelo CDC (31, 32, 33, 34). Eliminar os reagentes, resíduos e amostras não utilizados de acordo com os regulamentos locais.
- O Copan MSwab® não deve ser utilizado se (1) houver sinais visíveis de danos (por exemplo, ponta ou haste da zaragatoa quebrada) ou contaminação do produto, (2) houver sinais visíveis de fugas, (3) a data de validade tiver expirado, (4) a embalagem da zaragatoa estiver aberta, (5) houver outros sinais de deterioração.
- Devido à geometria da miniponta flexível, a zaragatoa pode torcer ao ser inserida no tubo de ensaio pelo que, caso seja necessário retirar a zaragatoa do tubo, o operador deve ser cauteloso e respeitar as precauções de segurança biológica adequadas para sua própria proteção e do ambiente em caso de salpicos.
- Ver as instruções de utilização fornecidas com o dispositivo ou disponíveis em formato eletrónico e identificadas pelo indicador e-IFU na etiqueta da embalagem.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

O Copan MSwab® está pronto a ser utilizado e não necessita de qualquer preparação adicional. Está disponível nas diferentes configurações apresentadas na Tabela 1.

REF.	Descrição do produto Copan MSwab®	Embalagem
6E012N	Embalagem de colheita de amostras com: - Tubo de ensaio de 12 x 80 mm com tampa de rosca que contém 1 ml de meio de transporte e conservação MSwab®. - Zaragatoa FLOQSwabs® de tamanho padrão com ponta flocada em nylon, estéril e embalada individualmente.	50 unidades/caixa de 6x50 unidades/caixa de cartão
6E013N	Embalagem de colheita de amostras com: - Tubo de ensaio de 12 x 80 mm com tampa de rosca que contém 1 ml de meio de transporte e conservação MSwab®. - Miniponta flexível com ponta flocada em nylon, estéril e embalada individualmente	50 unidades/caixa de 6x50 unidades/caixa de cartão
6E092N01	Tubo de ensaio para transporte e conservação individual: - Tubo de ensaio de 16 x 100 mm e fundo redondo com tampa de rosca que contém 3 ml de meio de transporte e conservação MSwab®. - Zaragatoa com miniponta flexível com ponta flocada em nylon, estéril e embalada individualmente	50 unidades/caixa de 6x50 unidades/caixa de cartão

6E011N	<p>Tubo de ensaio para transporte e conservação individual:</p> <p>- Tubo de ensaio de 12 x 80 mm e fundo cónico com tampa de rosca que contém 1 ml de meio de transporte e conservação MSwab®.</p>	50 unidades/caixa de 6x50 unidades/caixa de cartão
6U019N	<p>Tubo de ensaio para transporte e conservação individual:</p> <p>- Tubo de ensaio de 12 x 80 mm e fundo cónico com tampa de rosca que contém 2 ml de meio de transporte e conservação MSwab®.</p>	50 unidades/caixa de 6x50 unidades/caixa de cartão
6E076N	<p>Tubo de ensaio para transporte e conservação individual:</p> <p>- Tubo de ensaio de 12 x 80 mm e fundo cónico com tampa de rosca que contém 3 ml de meio de transporte e conservação MSwab®.</p>	50 unidades/caixa de 6x50 unidades/caixa de cartão
6E028N.MER	<p>Embalagem descartável de colheita de amostras com:</p> <p>- Tubo de ensaio de 12 x 80 mm com tampa de rosca que contém 2 ml de meio de transporte e conservação MSwab®.</p> <p>- Zaragatoa FLOQSwabs® de tamanho padrão com ponta flocada em nylon, estéril e embalada individualmente.</p> <p>- Zaragatoa de limpeza com ponta larga de rayon, estéril e embalada individualmente.</p>	50 unidades/caixa de 6x50 unidades/caixa de cartão

Tabela 1

Colheita das amostras

A colheita correta das amostras do doente é extremamente importante para que o isolamento e a identificação de microrganismos infecciosos sejam efetuados com sucesso. Para instruções mais detalhadas sobre os processos de colheita, consultar os manuais de referência publicados sobre a matéria^(7, 2).

Para os códigos MSwab® 6E012N, 6E013N e 6E092N01:

1. Abrir a embalagem do kit MSwab®, retirar o tubo com o respetivo meio e o saco interno que contém a zaragatoa estéril.
2. Retirar a zaragatoa estéril do respetivo saco (ver Figura 2) e colher a amostra clínica. O operador deve tocar no aplicador da zaragatoa apenas acima da linha colorida do ponto de rutura, conforme ilustrado na Figura 2, que é a extremidade oposta à ponta da fibra de nylon. Sempre que manusear o aplicador da zaragatoa, o operador não deve tocar na área abaixo da linha colorida do ponto de rutura (a área a partir da linha até à ponta da zaragatoa flocada de nylon) pois qualquer toque irá levar à contaminação da haste do aplicador e consequentemente da cultura. Para evitar o risco de contaminação, certifique-se de que a ponta da zaragatoa só entra em contacto com o local da colheita.
3. Colher a amostra do doente.
4. Desapertar e retirar a tampa do tubo MSwab® tendo o cuidado de não derramar o meio.
5. Após a colheita da amostra, introduzir a zaragatoa no tubo de ensaio, até o ponto de rutura ficar ao mesmo nível da abertura do tubo. Dobrar a haste da zaragatoa formando um ângulo de 180° de modo a parti-la no ponto de rutura marcado a vermelho. Se necessário, rodar delicadamente a haste da zaragatoa até parti-la por completo e remover a parte superior da haste da zaragatoa (Figura 2).
6. Eliminar a parte quebrada da haste da zaragatoa num recipiente aprovado para eliminação de resíduos hospitalares.
7. Colocar de novo a tampa e fechar hermeticamente o tubo de ensaio.
8. Escrever o nome e os dados do doente na etiqueta do tubo de ensaio ou aplicar a etiqueta de identificação do doente.
9. Enviar a amostra para o laboratório.

Para o código MSwab® 6E028N.MER:

1. Abrir a embalagem do kit, remover o tubo de ensaio com o meio de transporte e os dois sacos internos, um com a zaragatoa estéril e outro com a "zaragatoa de limpeza".
2. A utilização da zaragatoa de limpeza é aconselhada apenas no caso de procedimentos de colheita de amostras endocervicais. A zaragatoa de limpeza com a ponta larga em fibra (ver Figura 2.b), só é utilizada para remover o excesso de muco na abertura do colo do útero e nas membranas mucosas circundantes. **Após a utilização, eliminar a zaragatoa num recipiente aprovado para eliminação de resíduos hospitalares.** No caso de procedimentos de colheita de amostras que não sejam endocervicais, a zaragatoa de limpeza não deve ser utilizada e deve ser eliminada.
3. Para a colheita de amostras clínicas, seguir as instruções fornecidas para os códigos 6E012N, 6E013N e 6E092N01 do passo 2 em diante.

Para os códigos MSwab® 6E011N e 6E076N:

1. Depois de colher a amostra do doente através da zaragatoa, desapertar e retirar a tampa do tubo de ensaio MSwab®, certificando-se de que o meio de transporte não é derramado.
2. Inserir a zaragatoa no tubo.
3. Se a zaragatoa apresentar um ponto de rutura, dobrar e partir a zaragatoa no mesmo, tendo o cuidado de manter o tubo afastado do rosto.
4. Colocar de novo a tampa e fechar hermeticamente o tubo de ensaio.
5. Escrever o nome e os dados do doente na etiqueta do tubo de ensaio ou aplicar a etiqueta de identificação do doente.
6. Enviar a amostra para o laboratório.

Fig. 2 - ZARAGATOA DE COLHEITA com linha indicadora do ponto de quebra e área de manuseamento do aplicador

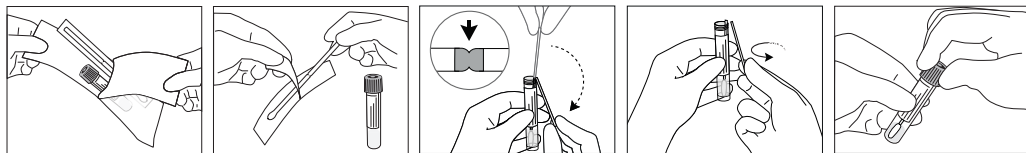


Fig. 2.a ZARAGATOA DE COLHEITA

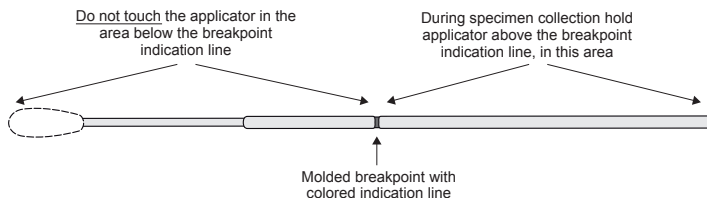
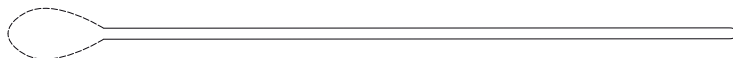


Fig 2.b ZARAGATOA DE LIMPEZA



Processamento de amostras MSwab® em laboratório – Bacteriologia

As amostras MSwab® devem ser processadas para cultura bacteriológica utilizando meios de cultura recomendados e técnicas laboratoriais adequadas ao tipo de amostras e aos organismos que estão a ser analisados. Para os meios e as técnicas de cultura para o isolamento e a identificação de bactérias vindas de amostras de zaragatoas clínicas, consultar os manuais e as diretrizes publicadas relativas à microbiologia⁽¹⁻⁶⁾. As análises em culturas de amostra de zaragatoas para deteção da presença de bactérias implicam a utilização regular de meio de cultura ágar sólido em placas Petri. O procedimento de inoculação das amostras MSwab® em ágar sólido em placas de Petri é o seguinte.

Nota: durante o manuseamento das amostras clínicas, utilizar luvas em látex e todos os outros equipamentos de proteção necessários. Observar as outras recomendações de Nível de 2 de segurança biológica emitidas pelo CDC^(31, 32, 33, 34).

Formato de kit de colheita (com ou sem aragatoo de limpeza):

Agitar o tubo MSwab® que contém a amostra na zaragatoo em vórtice durante 5 segundos para distribuir e suspender uniformemente a amostra do doente no meio de transporte.

1. Despertar a tampa do tubo MSwab® e retirar o aplicador da zaragatoo.
2. Rodar a ponta do aplicador MSwab® na superfície de um quadrante da placa de meio de cultura para obter o inóculo primário.
3. Se for necessário efetuar a sementeira numa segunda placa de meio de cultura, colocar novamente o aplicador MSwab® durante dois segundos no tubo do meio de transporte para absorver e recarregar a ponta do aplicador com o meio de transporte/suspensão da amostra do doente e repetir o passo n° 3.
4. Caso seja necessário inocular placas adicionais de meio de cultura, colocar novamente o aplicador MSwab® no tubo do meio de transporte e recarregar a ponta do aplicador com o meio de transporte/suspensão da amostra do doente antes de inocular cada uma das placas adicionais.

No procedimento acima descrito, o aplicador MSwab® é utilizado como uma haste de inoculação para transferir a suspensão de amostra do doente em meio de transporte para a superfície da placa de cultura que vai formar o inóculo primário (ver Fig. 3).

Em alternativa, o operador pode agitar em vórtice o tubo MSwab® com a zaragatoo no seu interior durante 5 segundos e transferir, depois, um volume de 100 µl de suspensão para as placas individuais de cultura através de uma pipeta volumétrica com ponta estéril. Devem, depois, utilizar-se técnicas laboratoriais para distribuir o inóculo primário da amostra do doente pela superfície da placa de cultura (ver Fig 4).

Formato apenas de tubo de ensaio:

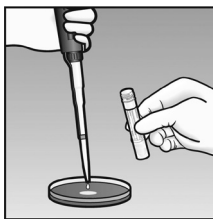
Agitar o tubo de ensaio MSwab® que contém a amostra durante 5 segundos para distribuir e suspender uniformemente a amostra do doente no meio de transporte.

Transferir um volume mínimo de 100 µl de suspensão para as placas individuais de cultura através de uma pipeta volumétrica com ponta estéril. Devem, depois, utilizar-se técnicas laboratoriais para distribuir o inóculo primário da amostra do doente pela superfície da placa de cultura (ver Fig4).

Fig.3 - Procedimentos de inoculação das amostras MSwab® em ágar sólido em placas de Petri

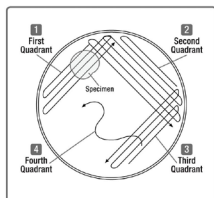


1. Utilização da zaragatoa para inocular a amostra.



2. Utilização da pipeta e das pontas estéreis para inocular um mínimo de 100 µl de amostra.

Este procedimento de inoculação deve ser considerado preferível se a amostra clínica também for analisada utilizando técnicas NAAT.

Fig. 4 - Procedimento para distribuir as amostras MSwab® nas placas de Petri para o isolamento primário ⁽³³⁾

Semear um inóculo primário de amostra MSwab® na superfície de uma placa de cultura de ágar no primeiro quadrante.

Usar uma ansa estéril para bacteriologia para distribuir o inóculo primário pela superfície do segundo, terceiro e quarto quadrante da placa de cultura em ágar.

Preparação de tiras com coloração de Gram de amostras MSwab®

A análise laboratorial das amostras em zaragatoas clínicas colhidas do doente pode incluir como procedimento de rotina o exame microscópico de preparações coloridas ("colheita direta") utilizando o procedimento da coloração de Gram. Este procedimento pode fornecer informações valiosas para os médicos que tratam doentes com doenças infecciosas ⁽²²⁾. São muitos os casos em que a coloração de Gram pode ser útil durante um diagnóstico ^(23, 27).

A coloração de Gram pode também ajudar a avaliar a qualidade das amostras e contribuir para a seleção dos meios de cultura, em particular no caso de flora mista.

As lamelas de microscópio das amostras dos doentes transportadas no sistema de transporte Copan MSwab® podem ser preparadas para a análise da coloração de Gram, conforme descrito abaixo, retirando para amostra uma fração da suspensão da zaragatoa agitada em vórtice ^(3, 4). As amostras transportadas no meio de eluição MSwab® representam uma suspensão homogênea na fase líquida. Podem ser distribuídas de maneira uniforme, o que permite uma leitura clara e simples.

Nota: durante o manuseamento das amostras clínicas, utilizar luvas em látex e todos os outros equipamentos de proteção necessários. Observar as outras recomendações de Nível de 2 de segurança biológica emitidas pelo CDC ^(31, 32, 33, 34).

1. Colocar uma lamela de microscópio limpa numa superfície plana e circunscrever uma área utilizando uma ponta de diamante ou um instrumento semelhante para identificar a posição do inóculo da amostra. Nota: também se pode utilizar uma lamela com uma cavidade pré-marcada de 20 mm.
2. Agitar em vórtice o tubo MSwab® que contém a amostra durante 5 segundos para soltar a amostra da ponta da zaragatoa e distribuir e suspender uniformemente a amostra do doente no meio de cultura.
3. Desapertar a tampa do MSwab® e, utilizando uma pipeta estéril, transferir 1-2 gotas de suspensão da amostra para a superfície circunscrita da lamela. Nota: cerca de 30 µl constituem uma quantidade de líquido adequada para uma cavidade de 20 mm de diâmetro pré-marcado.

Em caso de amostras densas ou que contenham sangue, deve-se prestar particular atenção para distribuir finamente a amostra na lamela. As bactérias são difíceis de detetar se a amostra tiver muitos glóbulos vermelhos e detritos.

4. Aguardar que a amostra na lamela seque ao ar, à temperatura ambiente, ou colocar a lamela num aquecedor elétrico ou numa incubadora para lamelas a uma temperatura não superior a 42°C.
5. Fixar as tiras com metanol. A fixação com metanol é recomendada dado que previne a lise dos glóbulos vermelhos, evita que todas as células-hóspedes fiquem danificadas e proporciona como resultado um fundo mais limpo ^(3, 4, 22).
6. Para efetuar a coloração de Gram, observar as diretrizes e os manuais de laboratório de referência. Se forem utilizados reagentes comerciais para a coloração de Gram, é importante respeitar as instruções do folheto informativo do fabricante relativas ao procedimento do teste de desempenho.

Para mais informações ou orientação na preparação das lamelas das amostras para a análise microscópica, para obter informações sobre os procedimentos para a coloração de Gram e para a interpretação e elaboração de relatórios de análises microscópicas, consultar os manuais de laboratório de referência publicados ^(1 - 5, 22 - 27).

Processamento de amostras MSwab® em laboratório – Virologia

A sobrevivência de HSV 1 e de HSV 2 depende de muitos fatores, incluindo o tipo e a concentração do microrganismo, a duração do transporte e a temperatura de conservação. Para manter a viabilidade ideal, as amostras devem ser transportadas diretamente para o laboratório, de preferência num período de 2 horas após a colheita^(1, 2, 7, 29). Se a entrega ou o processamento imediatos forem retardados, as amostras colhidas com o sistema de colheita, transporte e conservação Copan MSwab® devem ser refrigeradas a 4-8°C ou conservadas à temperatura ambiente (20 - 25°C) e processadas num período máximo de 48 horas. Se for necessário congelar amostras, estas devem ser congeladas a -70°C.

Em estudos de simulação de transporte e conservação, o Sistema Copan MSwab® tem demonstrado ser capaz de manter a viabilidade de HSV 1 e de HSV 2 em condições de temperatura refrigerada (4-8°C) e à temperatura ambiente (20-25°C) até um máximo de 48 horas. Com base nos estudos de desempenho realizados pela Copan e em publicações científicas independentes, a viabilidade de alguns microrganismos é superior a temperaturas refrigeradas em comparação com a temperatura ambiente^(12, 21, 29).

As amostras MSwab® devem ser processadas para fins de cultura virológica utilizando linhas celulares e técnicas de laboratório recomendadas, que dependem do tipo de amostra e do microrganismo em análise. Para as "shell vials" e as técnicas recomendadas para o isolamento e a identificação de HSV 1 e HSV 2 das amostras das zaragatoas clínicas, consultar as diretrizes e os manuais de virologia publicados^(1 - 6, 29, 30).

A análise de culturas de amostras em zaragatoas para a presença de HSV 1 e HSV 2 implica por norma o uso de culturas celulares em "shell vials". O procedimento de inoculação das amostras MSwab® nos "shell vials" é descrito abaixo.

NOTA: ao manusear amostras clínicas, utilizar luvas de látex e outros meios de proteção compatíveis com precauções universais. Observar as outras recomendações BSL 2.

Formato de kit de colheita:

1. Agitar em vórtice o tubo MSwab® que contém a amostra durante 5 segundos para soltar a amostra da ponta da zaragatoa e distribuir e suspender uniformemente a amostra do doente no meio de transporte líquido.
2. Desapertar a tampa do tubo MSwab® e retirar o aplicador da zaragatoa.
3. Transferir um volume de 200 µl da suspensão para os shell vials e proceder de acordo com o procedimento interno do laboratório.
NOTA: as amostras do doente, que podem conter uma carga elevada de contaminantes bacterianos, podem requerer que sejam adicionados antibióticos ao meio de manutenção e de cultura das células.
4. Prosseguir com técnicas adequadas de deteção de vírus.

Formato apenas de tubo de ensaio:

1. Agitar em vórtice o tubo MSwab® durante 5 segundos.
2. Desenroscar a tampa MSwab® e transferir um volume de 200 µl da suspensão para os "shell vials" e proceder de acordo com o procedimento interno do laboratório.
NOTA: As amostras do doente, que podem conter uma carga elevada de contaminantes bacterianos, podem requerer que sejam adicionados antibióticos ao meio de realimentação.
3. Prosseguir com técnicas adequadas de deteção de vírus.

Processamento de amostras MSwab® para análise molecular em laboratório

As amostras recebidas no laboratório para a deteção de ácidos nucleicos devem ser processadas quando recebidas no laboratório. Em caso de atraso, consultar as condições adequadas de armazenamento de amostra.

NOTA: Para o manuseamento das amostras clínicas, utilizar luvas de látex e outro equipamento de proteção geral. Respeitar o Nível 2 de Segurança Biológica (BSL) estabelecido pelo CDC^(31, 32, 33, 34).

Ao utilizar métodos moleculares, tomar as precauções necessárias para evitar a disseminação da contaminação. A separação espacial das áreas de trabalho e o fluxo de trabalho unidirecional são essenciais para evitar uma contaminação cruzada do fragmento amplificado⁽³⁵⁾.

A formulação do meio MSwab® foi desenvolvida para ser compatível com PCR Master Mixes; isto torna-o adequado para ensaios NAAT sem a necessidade de uma etapa padrão de extração e purificação.

Para o processamento de amostras do MSwab® podem ser aplicados dois métodos diferentes (A e B):

A) Método de extração padrão

1. Agitar o tubo MSwab® num vórtice durante 10 segundos;
2. Desapertar a tampa (NOTA: para formato apenas de tubo vá para o ponto 4) e, segurando-a entre o polegar e o indicador, rodá-la para extrair a maior parte do fluido pela ponta.
3. Eliminar a zaragatoa;
4. Transferir a quantidade adequada da amostra (ex. 200 µl) para um tubo de extração observando os procedimentos laboratoriais normais. Nos códigos 6E013N e 6E092N01 que não têm a função da tampa de retenção disponível, utilizar uma pinça para extrair o aplicador do tubo. Ser cauteloso e cumprir as precauções de segurança biológica adequadas para proteger o operador e o ambiente em caso de salpicos.
5. Continuar de acordo com os procedimentos de extração e amplificação dos kits utilizados.

O sistema MSwab® foi validado com os seguintes métodos de extração: membrana de sílica-gel (Qiagen, Macherey & Nagel) e esferas magnéticas (EASYMAG, Qiasymphony, Magnapure). São aplicáveis outros métodos de extração após validação pelo utilizador final.

B) Método de extração rápida

Para a deteção de contaminação viral, recomenda-se uma passagem por choque térmico para a lise das amostras.

1. Agitar em vórtice o tubo de ensaio original da amostra MSwab® durante 10 segundos.
2. Utilizando uma micropipeta, transferir 200 µl de amostra de MSwab® para um microtubo estéril que contém esferas de vidro (2E013S50: tubo Copan com esferas de vidro, disponível separadamente) e agitar em vórtice durante 10 segundos. Conservar a amostra de MSwab® original para cultura ou teste adicionais.
3. Aquecer o microtubo num termóstato regulado para 98-100°C, durante pelo menos:
- 3 minutos PARA VÍRUS

- 10 minutos PARA BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS
- 5 minutos PARA BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS
- 4. Arrefecer o tubo à temperatura ambiente durante, pelo menos, 5 minutos
- 5. Centrifugar o microtubo a 10000xg durante 2 minutos para sedimentar os detritos celulares.
- 6. Transferir uma fração da amostra tratada do MSwab® para a master mix e proceder com a etapa de amplificação de acordo com o procedimento do kit de amplificação.

O método de extração rápida descrito acima foi testado com R-Biopharm RIDA®GENE Real Time PCR kits, Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time detection kit e com Genesig Real Time PCR kits by Primer Design em comparação com os métodos de extração padrão. São aplicáveis outros kits de amplificação CPR após validação. As estirpes testadas incluem: B. pertussis (ATCC® 8467), S. aureus (resistente à meticilina) (ATCC® 43300), E. coli O157-H7 (ATCC® 700728), S. tymphimurium (ATCC® 14028), C. difficile (ATCC® 9689), vírus da Influenza A (ATCC® VR-822), vírus da Influenza B (ATCC® VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC® 43069) e Chlamydia trachomatis (ATCC® VR880). Os testes não foram realizados com matrizes humanas. Os resultados obtidos dependem em grande parte de uma colheita correta e adequada da amostra, bem como do transporte e de um processamento atempado em laboratório.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os aplicadores MSwab® foram testados para garantir que não são tóxicos para as bactérias. Os aplicadores e o meio MSwab® foram testados para garantir que não são tóxicos para as linhas celulares utilizadas para a cultura de HSV 1 e HSV 2. O meio de transporte MSwab® foi testado relativamente à estabilidade do pH e à ausência de inibidores com amplificação direta de ácidos nucleicos⁽⁹⁾. O MSwab® é sujeito a testes de controlo de qualidade, antes da comercialização, no que se refere à sua capacidade de manter a viabilidade de bactérias gram-positivas aeróbias e anaeróbias facultativas e de vírus HSV à temperatura ambiente (20 - 25°C) para períodos específicos. Os procedimentos de controlo de qualidade dos dispositivos de transporte microbiológico devem ser efetuados de acordo com os métodos de teste descritos pela norma M40-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute e outras publicações⁽⁹⁾. Caso sejam detetados resultados aberrantes no controlo de qualidade, os resultados do doente não devem ser reportados.

RESULTADOS

Os resultados obtidos dependem em grande parte da colheita correta e adequada da amostra, bem como do seu transporte atempado e de um processamento correto no laboratório.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Recuperação das bactérias

Os procedimentos de análise utilizados para determinar o desempenho relativo à viabilidade bacteriana foram baseados em métodos de controlo de qualidade descritos na norma M40-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute⁽⁹⁾.

O sistema MSwab® destina-se exclusivamente à colheita de bactérias gram-positivas aeróbias e anaeróbias facultativas, vírus HSV 1 e HSV 2, pelo que as suas aplicações no terreno são mais limitadas do que as de outros dispositivos. Por esta razão, os estudos sobre a recuperação de bactérias foram realizados nas condições de transporte e conservação simulados tal como descritos e definidos na norma CLSI M40-A2, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard e neles estão incluídos as estirpes de bactérias gram-positivas aeróbias e anaeróbias facultativas do Grupo 1 do parágrafo 7.11.1 do documento CLSI M40-A2, nomeadamente:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427
Além disso, a Copan incluiu o teste de microrganismos gram-positivos aeróbios e anaeróbios facultativos adicionais, clinicamente relevantes, conforme exigido pela CLSI M40-A2. As estirpes bacterianas específicas utilizadas nestes estudos são as indicadas a seguir:	
Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228
Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (Streptococcus do Grupo B)	ATCC® 13813
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (resistentes à meticilina)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (resistentes à meticilina)	ATCC® 700698

Todas as culturas de bactérias eram de tipo ATCC® (American Type Culture Collection) e foram obtidas comercialmente.

A seleção destes microrganismos reflete também as bactérias gram-positivas aeróbias e anaeróbias facultativas que normalmente podem estar presentes em amostras colhidas e analisadas num laboratório de microbiologia clínica.

Os estudos relativos à viabilidade bacteriana foram realizados no Copan MSwab® a dois intervalos de temperatura diferentes, 4 - 8°C e 20 - 25°C, correspondentes respetivamente à temperatura refrigerada e à temperatura ambiente controlada. As zaragatoas que acompanham cada sistema de transporte foram inoculadas em triplicado diretamente com 100µl de suspensão microbiana em concentrações específicas. Em seguida, as zaragatoas foram colocadas nos respetivos tubos de meio de transporte e conservadas durante 0h, 24h e 48 horas. Cada zaragatoa foi analisada nestes intervalos temporais de acordo com os métodos "Swab Elution Method" e "Roll-Plate Method".

Os estudos adicionais de viabilidade bacteriana para Staphylococcus aureus, ATCC® 29213 e ATCC® 6538 e Staphylococcus aureus (resistentes à meticilina) ATCC® 43300 e ATCC® 700698 foram realizados no Copan MSwab® a dois intervalos de temperatura diferentes, 4 - 8°C e 20 - 25°C, correspondentes respetivamente à temperatura refrigerada e à temperatura ambiente.

A zaragatoa que acompanha cada sistema de transporte foi inoculada em triplicado diretamente com 100µl de suspensão microbiana em concentrações específicas. Em seguida, as zaragatoas foram colocadas nos respetivos tubos de meio de transporte e:

para os estudos efetuados a 4-8°C, os tubos MSwab® inoculados foram mantidos neste estado durante 0 horas, 10 dias e 14 dias. Nos intervalos de tempo definidos, cada MSwab® foi processado utilizando o "Roll-Plate Method".

Para os estudos efetuados a 20-25°C, os tubos MSwab® inoculados foram mantidos neste estado durante 0 e 72 horas. Nos intervalos de tempo definidos, cada MSwab® foi processado utilizando o "Roll-Plate Method".

Os estudos para avaliar o crescimento bacteriano excessivo foram realizados no Copan MSwab® a 4 - 8°C, correspondentes à temperatura refrigerada. As zaragoatas que acompanham cada sistema de transporte foram inoculadas em triplicado diretamente com 100µl de suspensão microbiana em concentrações específicas. Em seguida, as zaragoatas foram colocadas nos respectivos tubos de meio de transporte e conservadas durante 0h e 48 horas. Nos intervalos de tempo definidos, cada zaragatoa foi processada utilizando o "Roll-Plate Method".

Os estudos relativos ao crescimento bacteriano excessivo foram realizados com *Pseudomonas aeruginosa*.

Os estudos relativos à infeciosidade das estirpes virais foram realizados com HSV 1 e HSV 2. As zaragoatas que acompanham cada sistema de transporte foram inoculadas em triplicado diretamente com 100µl de suspensão viral. As zaragoatas foram, em seguida, colocadas nos respectivos tubos de meio de transporte e conservadas durante 0, 24 e 48 horas a 4°C e à temperatura ambiente (20-25°C). A intervalos de tempo definidos, cada zaragatoa foi agitada em vórtice e extraída do seu tubo com meio de transporte, após o que se procedeu à inoculação de uma alíquota de 200 µl desta suspensão em "shell vials". Todas as culturas foram processadas com uma técnica de cultura de laboratório padrão e examinadas após um período de incubação especificado. A infeciosidade viral foi determinada por contagem de focos fluorescentes.

Os vírus avaliados foram:

Vírus herpes simplex Tipo 1 (HSV 1)	ATCC® VR-539
Vírus herpes simplex Tipo 2 (HSV 2)	ATCC® VR-734.

De acordo com a norma M40-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute, o desempenho da viabilidade de cada microrganismo de ensaio é verificado às 48 horas e é comparado com os critérios de aceitação.

Em ambos os estudos de desempenho da viabilidade, "Roll-Plate" e "Swab Elution", o sistema Copan MSwab® foi capaz de manter uma recuperação aceitável de todos os microrganismos avaliados quer a temperatura refrigerada (4-8°C) quer à temperatura ambiente (20-25°C). A recuperação aceitável para o "Roll Plate Method" é definida como sendo ≥ 5 UFC após o tempo de conservação especificado a começar de uma contagem em placa no tempo zero não superior a 300 UFC. A recuperação aceitável para o "Swab Elution Method" é definida como uma redução da concentração bacteriana não superior a $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) de UFC entre a contagem de UFC do tempo zero e a UFC das zaragoatas após o tempo de conservação especificado.

Foram testados pontos temporais adicionais para *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 e ATCC® 6538 e para *Staphylococcus aureus* (resistente à metilicina) ATCC® 43300 e ATCC® 700698.

Nos estudos de desempenho da viabilidade "Roll-Plate", o sistema Copan MSwab® foi capaz de manter uma recuperação aceitável de todos os microrganismos avaliados quer a temperatura refrigerada (4-8°C) durante 14 dias quer à temperatura ambiente (20-25°C) durante 72 horas. A recuperação aceitável para o "Roll Plate Method" é definida como sendo ≥ 5 UFC após o tempo de conservação especificado a começar de uma contagem em placa no tempo zero não superior a 300 UFC.

As análises da viabilidade incluem também exames do crescimento excessivo das bactérias a temperaturas de refrigeração (4-8°C). No "Swab Elution Method", a avaliação do crescimento excessivo é feita em todas as bactérias testadas a um tempo de conservação de 48 horas. A avaliação do crescimento excessivo com o "Swab Elution Method" é definida como um aumento superior a 1 \log_{10} entre o tempo zero da contagem das UFC e o tempo de conservação. No "Roll Plate Method" a avaliação do crescimento excessivo é efetuada com um procedimento diferente em que as zaragoatas são doseadas com 100 µl que contém 102 UFC de cultura de *Pseudomonas aeruginosa*. Nestas condições, o crescimento excessivo é definido como um aumento superior a 1 \log_{10} entre o tempo zero da contagem das UFC e o tempo de conservação de 48 horas.

O sistema Copan MSwab® não apresentou qualquer crescimento excessivo com base nos critérios de aceitação descritos na norma M40-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute.

O sistema Copan MSwab® conseguiu manter a infeciosidade dos seguintes vírus durante um mínimo de 48 horas à temperatura ambiente (20-25°C) e refrigerada (2-8°C), nas condições de teste acima descritas: Vírus herpes simplex Tipo 1, Vírus herpes simplex Tipo 2.

Conservação dos ácidos nucleicos

As amostras colhidas com o MSwab® a serem analisadas por técnicas de amplificação dos ácidos nucleicos devem ser processadas num período de 14 dias após a amostragem, quando conservadas à temperatura ambiente (20-25°C), num período de 21 dias quando conservadas a 4°C e num período de 6 meses quando conservadas a -20°C.

Os testes de desempenho com Copan MSwab® foram realizados utilizando suspensões de estirpes laboratoriais depositadas na zaragatoa FLOQSwabs® associada ao meio. As estirpes testadas incluem: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (resistente à metilicina) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. typhimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, vírus da *Influenza A* ATCC® VR-822, vírus da *Influenza B* ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 e *C. trachomatis* ATCC® VR880. Os testes de desempenho não foram realizados utilizando amostras clínicas humanas e/ou matrizes de origem humana.

Os resultados obtidos dependem em grande parte da colheita correta e adequada da amostra, bem como do transporte atempado e do processamento no laboratório.

TABELA DE SÍMBOLOS

Ver a tabela de símbolos no fim das instruções de utilização.

Copan MSwab® sistem za sakupljanje, transport i čuvanje za molekularne i kulturne primene**Uputstvo za upotrebu****NAMENA**

MSwab® sistem se koristi za prikupljanje, transport i čuvanje kliničkih uzoraka od mesta sakupljanja do laboratorija za ispitivanje. U laboratoriji se uzorci prikupljeni u sistemu MSwab® mogu analizirati pomoću standardnih kliničkih postupaka za:

- bakterijska kultura aerobnih i fakultativnih anaerobnih gram-pozitivnih mikroorganizama
- virusna kultura HSV 1 i HSV 2 virusa
- Otkrivanje nukleinske kiseline bakterija i virusa.

KRATAK PREGLED I NAČELA

Jedan od rutinskih postupaka u dijagnostikovanju bakterijskih infekcija uključuje bezbedno sakupljanje i transport uzoraka briseva. To se može postići korišćenjem Copan MSwab® sistema za sakupljanje, transport i čuvanje. Sredstvo je dizajnirano da održi održivost aerobnih i fakultativnih anaerobnih gram-pozitivnih bakterija i HSV 1 i HSV 2 virusa tokom transporta u laboratoriju za ispitivanje.

Pored toga, Copan MSwab® omogućava prepoznavanje očuvanja nukleinskih kiselina patogeno upotrebom tehnika molekularne amplifikacije (NAAT).

Copan MSwab® sistem za sakupljanje, transport i skladištenje isporučuje se u tri različita formata:

- Format kompleta za sakupljanje. Svaki komplet za sakupljanje se sastoji se od paketa koji sadrži plastičnu epruvetu sa poklopcem sa konusnim oblikovanim dnom napunjenu sa 1 ml ili 3 ml MSwab® sredstva za transport i zaštitu i sa malom sterilnom vrećicom za ljusku koja sadrži jedan uzorak FLOQSwabs® čiji je vrh obložen najlonkim vlaknima.
- Format samo sa epruветom. Plastična epruveta sa poklopcem na zavrtnje sa konusnim dnom ispunjena sa 1 ml, 2 ml ili 3 ml MSwab® sredstva za transport i zaštitu.
- Format kompleta za sakupljanje sa brisom za čišćenje. Svaki komplet za sakupljanje se sastoji se od paketa koji sadrži plastičnu epruvetu sa poklopcem sa konusnim oblikovanim dnom napunjenu sa 2 ml MSwab® sredstva za transport i zaštitu i sa malom sterilnom vrećicom za ljusku koja sadrži jedan uzorak FLOQSwabs® čiji je vrh obložen najlonkim vlaknima i sa sterilnom vrećicom za ljusku koja sadrži jedan bris za čišćenje sa velikim vrhom umotan u vlaknima za uklanjanje viška vaginalne sluzi.

Nakon što se uzorak uzme pomoću brisa, mora odmah da se stavi u MSwab® epruvetu za testiranje koja sadrži sredstvo za transport i čuvanje. Uzorci sakupljeni upotrebom MSwab® sistema, koji će se analizirati tehnikama bakterijskih ili virusnih kultura, moraju da se transportuju direktno u laboratoriju, po mogućnosti u roku od 2 sata od sakupljanja^(1, 2, 7) da bi se održala optimalna održivost mikroorganizama. Ako se odloži trenutna isporuka ili analiza uzoraka, uzorci se mogu hladiti na 4-8°C ili čuvati na sobnoj temperaturi (20-25°C) i analizirati u roku od 48 sati od uzorkovanja. Studije održivosti bakterija za *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 i ATCC® 6538 i *Staphylococcus aureus* (otporne na meticilin) ATCC® 43300 i ATCC® 700698 pokazuju održivost testiranih mikroorganizama do 14 dana u hladnjaku (4-8°C) ili 72 sati na sobnoj temperaturi (20-25°C). Nezavisne naučne studije o sistemima za transport brisa pokazuju da je održivost nekih bakterija veća na temperaturi hladnjaka nego na sobnoj temperaturi⁽¹²⁻²¹⁾. Ako se uzorci virusa moraju zamrznuti, trebalo bi ih zamrznuti na -70°C.

Uzorci prikupljeni upotrebom MSwab® sistema za otkrivanje bakterijskih ili virusnih nukleinskih kiselina moraju da se analiziraju u roku od 14 dana ako se čuvaju na sobnoj temperaturi (20-25°C), u roku od 21 dana ako se čuvaju na temperaturi od 4°C i u roku od 6 meseci ako se čuvaju na -20°C.

REAGENSI**MSwab® formulacija sredstva za transport**

Destilovana voda
Organski rastvarač
Pufer
Govedi serumski albumin

pH vrednost: 8,5 ± 0,20

MATERIJAL KOJI JE POTREBAN ALI NIJE OBEZBEĐEN

Materijali pogodni za aerobnu i fakultativnu anaerobnu izolaciju i uzgoj gram-pozitivnih bakterija.

Ovi materijali uključuju laboratorijske pločice ili epruvete i sisteme za inkubaciju. Pogledajte preporučene protokole u vezi sa tehnikama aerobne i fakultativne kulture anaerobnih bakterija i identifikacijom iz brisova kliničkih uzoraka^(2, 4) u laboratorijskim priručnicima. Materijali pogodni za izolaciju, diferencijaciju i kulturu virusa. Ovi materijali uključuju ćelijske linije za kulturu tkiva, sredstvo za kulturu tkiva, sisteme za inkubaciju i instrumente za čitanje. Pogledajte odgovarajuće reference za preporučene protokole za izolaciju i identifikaciju virusa^(1, 7). Materijali pogodni za ekstrakciju i amplifikaciju nukleinskih kiselina za molekularno biološko ispitivanje. Blok za grejanje i centrifugu za brze metode ekstrakcije. Pogledajte referentne laboratorijske priručnike za identifikaciju i amplifikaciju nukleinskih kiselina u kliničkim uzorcima briseva.

U slučaju metoda brze ekstrakcije, predlaže se prenos odgovarajućeg alikvota MSwab® (pogledajte odeljak **Obrada MSwab® uzoraka za molekularno ispitivanje u laboratoriji, Metoda B**) u „Copan“ epruvete sa staklenim kuglicama (šifra dostupna odvojeno 2E013S50).

SKLADIŠTENJE PROIZVODA

Proizvod je spreman za upotrebu i ne zahteva dalju pripremu. Dok se ne koristi, mora se skladištiti u originalnom pakovanju na 5-25°C. Nemojte pregrevati. Nemojte inkubirati ili nemojte zamrzavati pre upotrebe. Neispravno skladištenje dovodi do gubitka efikasnosti. Nemojte koristiti nakon isteka roka upotrebe koji je jasno ođštampan na spoljašnjoj kutiji i na svakoj pojedinačnoj jedinici za sakupljanje i nalepnici transportne epruvete.

SAKUPLJANJE, TRANSPORT I ČUVANJE UZORAKA

Uzorke sakupljene za mikrobiološko ispitivanja koja uključuju izolaciju bakterija ili virusa bi trebalo sakupljati i rukovati u skladu sa objavljenim priručnicima i smericama^(7, 8, 4).

Da bi se održala optimalna održivost mikroorganizama i integritet nukleinskih kiselina, transportujte uzorke sakupljene pomoću MSwab® sistema direktno u laboratoriju, po mogućnosti u roku od 2 sata od sakupljanja^(1, 2, 7). Ako se trenutna isporuka ili obrada odloži, uzorke bi trebalo hladiti na 4 - 8°C ili skladištiti na sobnoj temperaturi (20 - 25°C) i obrađivati u roku od 48 sati. Studije održivosti bakterija za *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 i ATCC® 6538 i *Staphylococcus aureus* (otporne na metililin) ATCC® 43300 i ATCC® 700698 pokazuju održivost testiranih mikroorganizama do 14 dana u hladnjaku (4 - 8°C) ili 72 sata na sobnoj temperaturi (20 - 25°C). Ako se uzorci virusa moraju zamrznuti, trebalo bi ih zamrznuti na -70°C.

Uzorci sakupljeni upotrebom MSwab® sistema za analizu sa NAAT bi trebalo da se obrade u roku od 14 dana kada se skladište na sobnoj temperaturi (20 - 25°C), u roku od 21 dana kada se skladište na 4°C i u roku od 6 meseci kada se čuvaju na -20°C.

Testiranje performansi sa MSwab® sistemom je sprovedeno pomoću suspenzija laboratorijskih sojeva nabačenih na FLOQSwabs® povezan sa sredstvom. Testirani sojevi uključuju: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (otporan na metililin) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, Influenza A virus ATCC® VR-822, Influenza B virus ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 i *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. Testiranje performansi nije sprovedeno na uzorcima ljudskih matrica.

Posebni zahtevi za otpremu i rukovanje uzorcima bi trebalo da bude u potpunosti u skladu sa državnim i saveznim propisima^(34, 35, 36, 37). Otpremanje uzoraka unutar medicinskih ustanova bi trebalo da bude u skladu sa internim smernicama ustanove. Sve uzorke bi trebalo obraditi čim se prime u laboratoriju.

DOSTAVLJENI MATERIJAL

Pedeset (50) jedinica Copan MSwab® sistema se nalazi u kutiji, a 6 kutija x 50 jedinica u kartonu.

Copan MSwab® sistem za sakupljanje, transport i skladištenje isporučuje se u tri različita formata:

- Format kompleta za sakupljanje: svaki komplet za sakupljanje se sastoji se od paketa koji sadrži plastičnu epruvetu sa poklopcem sa konusnim oblikovanim dnom napunjenu sa 1 ml ili 3 ml MSwab® sredstva za transport i zaštitu i sa malom sterilnom vrećicom za ljusku koja sadrži jedan uzorak FLOQSwabs® čiji je vrh obložen najlonskim vlaknima (sl. 2a).
- Format samo sa epruvetom: plastična epruveta sa poklopcem na zavrtanje sa konusnim dom ispunjena sa 1 ml, 2 ml ili 3 ml MSwab® sredstva za transport i zaštitu.
- Format kompleta za sakupljanje sa brisom za čišćenje: svaki komplet za sakupljanje se sastoji se od paketa koji sadrži plastičnu epruvetu sa poklopcem sa konusnim oblikovanim dnom napunjenu sa 2 ml MSwab® sredstva za transport i zaštitu i sa malom sterilnom vrećicom za ljusku koja sadrži jedan FLOQSwabs® uzorak čiji je vrh obložen najlonskim vlaknima (sl. 2a) i sa sterilnom vrećicom za ljusku koja sadrži jedan bris za čišćenje sa velikim vrhom umotan u vlaknima za uklanjanje viška vaginalne sluzi (sl. 2b).

Postoje dve vrste briseva za sakupljanje uzoraka: brisevi standardne veličine sa naboranim najlonskim vrhom namenjeni za sakupljanje uzoraka sa anatomskih mesta kao što su grlo, vagina, rane, rektum i fekalije; fleksibilni mali vrh sa naboranim najlonskim vrhom za nazofaringealno sakupljanje. Svi naborani brisevi isporučeni sa MSwab® sistemom imaju tačku preloma na štapiću briseva označenu obojenom linijom.

Nakon uzimanja uzorka od pacijenta, prethodno oblikovana tačka prekida olakšava pucanje aplikatora u epruveti koja sadrži MSwab® sredstvo za transport. Poseban oblik kapica za hvatanje i epruvete za testiranje omogućavaju uzimanje štapića brisa nakon što se slomi i kapica zatvori (pogledajte sl.1).

Zavrtanjem kapica na epruvetu za testiranje, kraj štapića se pomera u šupljinu kapice. Kada se epruveta otvori u laboratoriji za ispitivanje, aplikator ostaje pričvršćen na poklopac i operater može lako da ukloni bris iz epruvete i izvrši mikrobiološke analize koristeći kapicu kao dršku za držanje aplikatora brisa.

Funkcija kapice za hvatanje je zagantovana samo kada se koristi naborani „Copan“ bris standardne veličine.

Karakteristika kapice za hvatanje nije primenljiva na bris pernasala (REF. 6E013N i 6E092N01).

Sl. 1 - Hvatanje slomljenog štapića brisa u kapicu MSwab® epruvete za testiranje



OGRAIČENJA

- Uslovi, vreme i zapremina uzoraka sakupljenih za kulturu su značajne promenljive za dobijanje pouzdanih rezultata. Pridržavajte se preporučenih smernica za sakupljanje uzoraka^(7, 8, 4).
- MSwab® ne sme da se koristi kao obogaćujuće, selektivno ili diferencijalno sredstvo.
- MSwab® sredstvo ne sadrži antibiotike. Uzorci pacijenata koji mogu sadržati veliko opterećenje bakterijskim zagađivačima mogu zahtevati dodavanje antibiotika u sredstvo za očuvanje ćelija i kulturu.
- Copan MSwab® testovi performansi sprovedeni su pomoću laboratorijskih sojeva koji su naneti na bris u skladu sa protokolima testiranja opisanim u standardu odobrenom od strane instituta za kliničke i laboratorijske standarde M40-A2⁽⁹⁾. Testiranja performansi nisu sprovedena na ljudskim uzorcima.
- Copan MSwab® testovi performansi su sprovedeni pomoću „Copan“ naboranih brisova.
- Preduzmite mere predostrožnosti radi biološkog rizika i koristite odobrene aseptične tehnike. Proizvod mogu koristiti samo obučene i kvalifikovane osobe.

UPOZORENJA

- Kada rukujete kliničkim uzorcima u laboratoriji, nosite rukavice i sve druge potrebne zaštitne uređaje. Kada rukujete ili analizirate uzorke pacijenta, pridržavajte se 2. nivoa biološke bezbednosti koji je utvrđen CDC-om^(31, 32, 33, 34).
- Za in vitro dijagnostičku upotrebu.

3. Nemojte ponovo sterilisati neiskorišćene brisove.
4. Ovaj proizvod služi samo za jednokratnu upotrebu; ponovna upotreba može da prouzrokuje rizik od infekcije i/ili netačne rezultate.
5. Nemojte prepakivati.
6. Nije pogodan za bilo koju drugu primenu osim predviđene.
7. Korisnik mora pre upotrebe mora da potvrdi upotrebu proizvoda sa kompletom za brzu dijagnostiku ili sa dijagnostičkim instrumentima.
8. Nemojte koristiti preveliku silu, gurati ili savijati bris prilikom sakupljanja uzoraka od pacijenata jer se u suprotnom štapić brisa može slučajno polomiti.
9. Nemojte da koristite istu epruvetu za više pacijenata. To će za rezultat imati netačnu dijagnozu. Pre transporta, pobrinite se da je MSwab® kapica na zavrtnu zatvorena.
10. Nemojte da savijate bris za sakupljanje pre upotrebe.
11. Nemojte da koristite MSwab® sredstvo za prethodno navlaživanje ili prethodno natopljanje aplikatora brisa pre uzimanja uzorka ili za vlaženje mesta za uzimanje uzoraka.
12. Izbegavajte kontakt MSwab® sredstva sa kožom i sluzokožom. Ako dođe do kontakta, isprati sa puno vode.
13. Nemojte gutati sredstvo za transport.
14. Pažljivo pratite uputstva za upotrebu.
15. Proizvodom mogu rukovati samo obučene osobe.
16. Pridržavajte se odobrenih mera predostrožnosti i aseptičnih tehnika za biološku opasnost.
17. Ponavljano zamrzavanje i odmrzavanje uzoraka može smanjiti oporavak vitalnih organizama ^(8,35).
18. Stanje, vreme i obim uzorka prikupljenih za kultivisanje su značajne promenljive u dobijanju pouzdanih rezultata kultivisanja. Pridržavajte se preporučenih smernica za sakupljanje uzoraka.
19. Uvek se mora pretpostaviti da svi uzorci sadrže zaražene mikroorganizme i zato se preporučuje krajnji oprez. Nakon upotrebe, epruvete i briseve odložite u skladu sa laboratorijskim procedurama za zaraženi otpad. Pridržavajte se 2. nivoa biološke bezbednosti koji je utvrdjen CDC-om ^(31, 32, 33, 34). Bacite neiskorišćene reagense, otpad i uzorke u skladu sa lokalnim propisima.
20. Copan MSwab® ne sme da se koristi ako (1) postoje dokazi o oštećenju proizvoda (npr. slomljeni vrh brisa ili štapića) ili kontaminacije, (2) postoje dokazi o curenju, (3) datum korišćenja je istekao, (4) paket papira je otvoren, (5) postoje i drugi znakovi pogoršanja.
21. Zbog geometrije fleksibilnog malog vrha, štapić može da se iskrivi kada se stavi u epruvetu za testiranje, pa ako je potrebno uklonite bris iz epruvete, obratite pažnju i pridržavajte se odgovarajućih mera predostrožnosti za biološku opasnost da biste zaštitili rukovaoca i životnu sredinu u slučaju prskanja.
22. Proverite verziju uputstva za upotrebu. Ispravna verzija je ona koja se isporučuje sa uređajem ili je dostupna u elektronskom formatu, a može se prepoznati pomoću e-IFU indikatora na etiketi pakovanja.

UPUTSTVO ZA UPOTREBU

Copan MSwab® je spreman za upotrebu i ne zahteva dalju pripremu. Dostupan je u različitim konfiguracijama prikazanim u tabeli 1.

REF.	Copan MSwab® opis proizvoda	Paket
6E012N	Paket za prikupljanje uzoraka sadrži: - Epruvetu za testiranje od 12x80 mm sa poklopcem na zavrtnu koja sadrži 1 ml MSwab® sredstva za skladištenje i transport. - FLOQSwabs® bris standardne veličine sa najlonskim naboranim vrhom, sterilan i pojedinačno umotan.	50 komada/kutija od 6x50 komada/kartonska kutija
6E013N	Paket za prikupljanje uzoraka sadrži: - Epruvetu za testiranje od 12x80 mm sa poklopcem na zavrtnu koja sadrži 1 ml MSwab® sredstva za skladištenje i transport. - Fleksibilni mali najlonski naborani vrh, sterilan i pojedinačno umotan	50 komada/kutija od 6x50 komada/kartonska kutija
6E092N01	Jednu epruvetu za transport i skladištenje: - Epruvetu za testiranje od 16x100 mm sa okruglim dnom i poklopcem na zavrtnu koja sadrži 3 ml MSwab® sredstva za skladištenje i transport. - Fleksibilan minitip bris vrhom od najlonskih vlakana, sterilan i pojedinačno upakovan	50 komada/kutija od 6x50 komada/kartonska kutija
6E011N	Pojedinačna cev za transport i zaštitu: - Epruveta za testiranje od 12x80 mm sa suženim dnom i poklopcem na zavrtnu koja sadrži 1 ml MSwab® sredstva za skladištenje i transport.	50 komada/kutija od 6x50 komada/kartonska kutija
6U019N	Pojedinačna cev za transport i zaštitu: - Epruveta za testiranje od 12x80 mm sa suženim dnom i poklopcem na zavrtnu koja sadrži 2 ml MSwab® sredstva za skladištenje i transport.	50 komada/kutija od 6x50 komada/kartonska kutija
6E076N	Pojedinačna cev za transport i zaštitu: - Epruveta za testiranje od 12x80 mm sa suženim dnom i poklopcem na zavrtnu koja sadrži 3 ml MSwab® sredstva za skladištenje i transport.	50 komada/kutija od 6x50 komada/kartonska kutija

6E028N.MER	<p>Jednokratni paket za prikupljanje uzoraka sadrži:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Epruvetu za testiranje od 12x80 mm sa poklopcem na zavrtnje koja sadrži 2 ml MSwab® sredstva za skladištenje i transport. - FLOQSwabs® bris standardne veličine sa najlonskim naboranim vrhom, sterilan i pojedinačno umotan. - Bris za čišćenje sa velikim vrhom od viskoznog vlakna, sterilan i pojedinačno umotan. 	50 komada/kutija od 6x50 komada/kartonska kutija
------------	--	--

Tabela 1

Sakupljanje uzoraka

Pravilno uzimanje uzoraka od pacijenta je izuzetno važno za uspešnu izolaciju i identifikaciju zaraznih mikroorganizama. Za specifične smernice u vezi sa postupcima sakupljanja uzoraka, pogledajte objavljene referentne priručnike. ^(7,2)

Za MSwab® sa šiframa 6E012N, 6E013N i 6E092N01:

1. Otvorite MSwab® kompleta, izvadite epruvetu koja sadrži sredstvo i unutrašnju vrećicu u kojoj se nalazi sterilni bris.
2. Uklonite sterilni bris iz vrećice (pogledajte sliku 2) i sakupite klinički uzorak. Rukovalac mora da dodiruje aplikator brisa samo iznad obojene linije preloma, kao što je prikazano na slici 2, koja je suprotni kraj od vrha sa najlonskim vlaknima. Sve vreme prilikom rukovanja aplikatorom brisa, rukovalac ne sme da dodiruje područje ispod obojene linije preloma (područje od linije do vrha najlonskog naboranog brisa), jer će to dovesti do kontaminacije štapića aplikatora i naknadne kulture. Da biste sprečili rizik od kontaminacije, pobrinite se da vrh brisa dolazi u kontakt samo sa mestom sakupljanja.
3. Uzmite uzorak od pacijenta.
4. Odvijte i uklonite kapicu sa MSwab® epruvete pazeći da ne prosipate sredstvo.
5. Nakon uzimanja uzorka, stavite bris u epruvetu dok tačka preloma ne bude na nivou otvora epruvete. Savijte štapić brisa pod uglom od 180 stepeni da biste ga slomili na crveno označenoj tački preloma. Ako je potrebno, nežno okrenite štapić brisa dok se potpuno ne odlomi i uklonite gornji deo štapića brisa (slika 2).
6. Bacite odlomljeni deo štapića brisa u odobreni kontejner za odlaganje medicinskog otpada.
7. Vratite kapicu na epruvetu i dobro je pričvrstite.
8. Napišite ime i podatke pacijenta na etiketi epruvete ili stavite nalepnicu za identifikaciju pacijenta.
9. Pošaljite uzorak u laboratoriju.

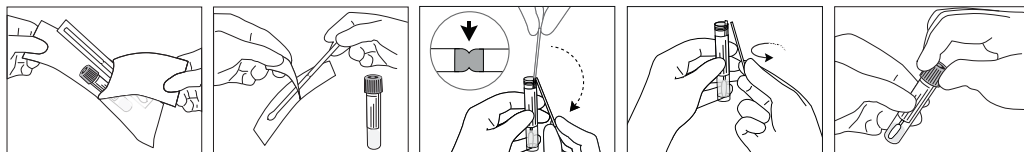
Za MSwab® sa šifrom 6E028N.MER:

1. Otvorite paket kompleta, izvadite epruvetu koja sadrži sredstvo za transport i dve unutrašnje vrećice, jednu koja sadrži sterilni bris i drugu koja sadrži „bris za čišćenje“.
2. Upotreba brisa za čišćenje se preporučuje samo u slučaju postupka uzimanja endocervikalnih uzoraka. Bris za čišćenje sa velikim vrhom od vlakana (pogledajte sliku 2.b) se koristi samo za uklanjanje viška sluzi prisutne na nivou otvora materice i okolne sluzokože. **Nakon upotrebe bacite bris u odobrenu posudu za sanitarni otpad.** U slučaju postupaka za sakupljanje uzoraka koji nisu endocervikalni, bris za čišćenje se ne sme koristiti i mora da se baci.
3. Za sakupljanje kliničkih uzoraka, pratite uputstva za šifre 6E012N, 6E043N i 6E092N01 od koraka 2 nadalje.

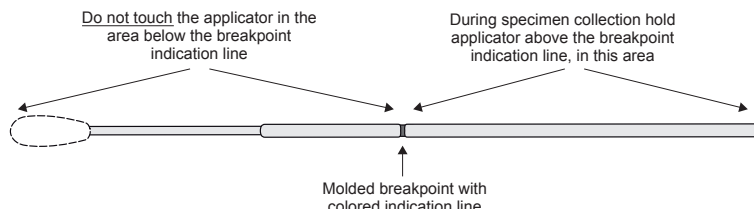
Za MSwab® sa šiframa 6E011N, 6U019N i 6E076N:

1. Nakon uzimanja uzorka od pacijenta pomoću brisa, odvrnite i uklonite kapicu sa MSwab® epruvete za testiranje pazeći da ne prospete sredstvo za transport.
2. Stavite bris u epruvetu za testiranje.
3. Ako bris ima tačku preloma, savijte ga i polomite na mestu preloma, vodeći računa da epruvetu držite dalje od lica.
4. Vratite kapicu na epruvetu i dobro je pričvrstite.
5. Napišite ime i podatke pacijenta na etiketi epruvete ili stavite nalepnicu za identifikaciju pacijenta.
6. Pošaljite uzorak u laboratoriju.

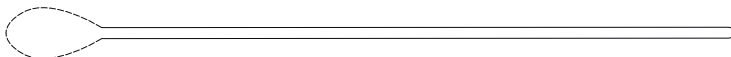
Sl. 2 - Bris za sakupljanje sa linijom za indikaciju tačke lomljenja i područjem za rukovanje aplikatorom



Sl. 2.a BRIS ZA SAKUPLJANJE



Sl. 2.b ČIŠĆENJE BRISA

**Obrada MSwab® uzoraka u laboratoriji – Bakteriologija**

MSwab® uzorke bi trebalo obrađivati za bakteriološku kulturu uz upotrebu preporučenih sredstava za kulturu i laboratorijskih tehnika koje će zavisi od vrste uzorka i organizma koji se ispituje. Za preporučena sredstva za kulturu i tehnike za izolaciju i identifikaciju bakterija iz kliničkih uzoraka briseva pogledajte objavljene mikrobiološke priručnike i smernice⁽¹⁻⁶⁾. Istraživanja kulture uzoraka briseva na prisustvo bakterija rutinski uključuju upotrebu čvrstog agarnog sredstva za kulturu u Petrijevim zdelicama. Postupak inokulacije MSwab® uzoraka na čvrsti agar u Petrijevim zdelicama je sledeći.

Napomena: Kada rukujete kliničkim uzorcima, nosite rukavice od lateksa i sve druge potrebne zaštitne uređaje. Pridržavajte se ostalih preporuka 2. nivoa biološke bezbednosti koje je izdao CDC^(31, 32, 33, 34).

Format kompleta za sakupljanje (sa ili bez brisa za čišćenje):

Vorteksujte MSwab® epruvetu za testiranje koja sadrži uzorak sakupljen brisom tokom 5 sekundi i ravnomerno raspršite i suspendujte uzorak pacijenta u sredstvu za transport.

1. Odrvnite MSwab® kapicu i uklonite aplikator brisa.
2. Zavrnite vrh MSwab® aplikatora na površinu jednog kvadranta ploče sa sredstvom za kulturu da biste dobili primarni inokulum.
3. Ako je potrebna kultura uzorka brisa na drugu pločicu sa sredstvo za kulturu, vratite MSwab® aplikator u cev sredstva za transport na dve sekunde za apsorpciju i napunite vrh aplikatora sredstvom za transport/suspenzijom uzorka pacijenta, a zatim ponovite korak br. 3.
4. Ako je potrebno inokulirati dodatne pločice za kulturu sredstva, vratite MSwab® aplikator u epruvetu sredstva za transport i napunite vrh aplikatora brisa sredstvom za transport/suspenzijom uzorka pacijenta pre inokulacije svake dodatne ploče.

Gore opisani postupak koristi MSwab® aplikator kao štapić za inokulaciju za prenos suspenzije uzorka pacijenta u sredstvu za transport na površinu ploče za kulturu koja stvara primarni inokulum (pogledajte sliku 3).

Alternativno, rukovalac može da vorteksuje MSwab® epruvetu sa brisom 5 sekundi, a zatim prenese 100 µl zapremine suspenzije na svaku pločicu za kulturu pomoću volumetrijskog pipetora i sterilnih vrhova pipete. Tada bi trebalo da koristite standardne laboratorijske tehnike za provlačenje primarnog inokuluma uzorka pacijenta preko površine ploče za kulturu (pogledajte sliku 4).

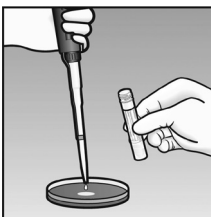
Format samo sa epruvetom:

Vorteksujte MSwab® epruvetu za testiranje 5 sekundi i ravnomerno raspršite i suspendujte uzorak pacijenta u sredstvu za transport.

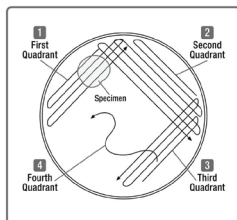
Prenesite 100 µl zapremine suspenzije na svaku pločicu za kulturu pomoću volumetrijskog pipetora i sterilnih vrhova pipete. Tada bi trebalo da koristite standardne laboratorijske tehnike za provlačenje primarnog inokuluma uzorka pacijenta preko površine ploče za kulturu (pogledajte sliku 4).

Sl. 3 - Postupci inokulacije MSwab® uzoraka na čvrsti agar u Petrijevim zdelama

1. Koristite bris za inokulaciju uzorka.



2. Koristite pipetor i sterilne vrhove pipeta za inokulaciju od najmanje 100 µl uzorka. Ovaj postupak inokulacije bi trebalo da se smatra poželjnim ako se klinički uzorak takođe analizira pomoću NAAT tehnika.

Sl. 4 - Postupak za nanošenje MSwab® uzoraka na agar Petri zdele za primarnu izolaciju⁽³³⁾

U prvi kvadrant nanosite primarni inokulum MSwab® uzorka na površinu odgovarajuće ploče sa agar kulturama.

Koristite sterilnu bakteriološku petlju za nanošenje primarnog inokuluma po površini drugog, trećeg i četvrtog kvadranta ploče za uzgoj agara.

Priprema brisova sa bojenjem po Gramu na MSwab® uzorcima

Laboratorijska analiza kliničkih uzoraka na brisu uzetih sa određenih mesta na pacijentu može rutinski da uključuje mikroskopski pregled obojenih preparata („direktni brisovi“) pomoću postupka bojenja po Gramu. Ovo može pružiti dragocene informacije lekarima koji leče pacijente sa zaraznim bolestima ⁽²²⁾. Postoji mnogo slučajeva u kojima bojenje po Gramu može da pomogne u postavljanju dijagnoze ^(23, 27).

Bojenje po Gramu takođe može da pomogne u proceni kvaliteta uzorka i da doprinese odabiru podloga za kulturu, posebno sa mešovitim florom. Staklene pločice za mikroskop za uzorke pacijenta koji se transportuju Copan MSwab® sistemom za transport mogu da se pripreme za analizu bojenjem po Gramu, kako je opisano u nastavku, uzorkovanjem alikvota vorteksovane suspenzije brisa ^(3, 4). Uzorak transportovan u MSwab® elucionom sredstvu predstavlja homogenu suspenziju u tečnoj fazi. To može ravnomerno da se razmaže omogućavajući jasno i lako čitanje. Napomena: Kada rukujete kliničkim uzorcima, nosite rukavice od lateksa i sve druge potrebne zaštitne uređaje. Pridržavajte se ostalih preporuka 2. nivoa biološke bezbednosti koje je izdao CDC ^(31, 32, 33, 34).

1. Uzmite čisti dijapozitiv sa staklene pločice za mikroskop, stavite ga na ravnu površinu i upišite područje pomoću dijamantskog vrha ili sličnog staklenog markera da biste identifikovali mesto inokuluma uzorka. Napomena: može da se koristi staklena pločica sa unapred obeleženom ćelijom od 20 mm.
2. Vorteksujte MSwab® epruvetu koja sadrži uzorak sa brisa 5 sekundi da bi uzorak spao sa vrha brisa i ravnomerno se raširio i suspendovao u sredstvu.
3. Odmrite MSwab® kapicu i pomoću sterilne pipete prenesite 1 - 2 kapi suspenzije uzorka na upisano mesto na staklenoj pločici. Napomena: oko 30 µl bi bila odgovarajuća količina tečnosti za prethodno obeleženu staklenu pločicu prečnika 20 mm.

U slučaju krvavih ili gušćih uzoraka, posebno bi trebalo paziti da se uzorak tanko raširi na staklenu pločicu. Bakterije je teško otkriti ako u uzorku ima mnogo crvenih ćelija i ostataka.

4. Ostavite uzorak na staklenoj pločici da se osuši na vazduhu na sobnoj temperaturi ili ga stavite u električni grejač staklenih pločica ili inkubator postavljen na temperaturu koja ne prelazi 42°C.
5. Fiksirajte brisove metanolom. Preporučuje se fiksiranje metanolom jer sprečava lizu crvenih krvnih ćelija, izbegava oštećenje svih ćelija domaćina i rezultira čistijom pozadinom (3, 4, 22).
6. Pratite objavljene laboratorijske referentne priručnike i smernice za izvođenje bojenja po Gramu. Ako se koriste komercijalni reagensi za bojenje po Gramu, važno je da se pridržavate uputstava proizvođača za proizvod za postupak ispitivanja performansi.

Za dalje informacije ili smernice o pripremi dijapozitiva za mikroskopsku analizu, za informacije o postupcima bojenja po Gramu i tumačenju i izveštavanju o mikroskopskim analizama, potražite objavljene laboratorijske referentne priručnike ^(1 - 5, 22 - 27).

Obrada MSwab® uzoraka u laboratoriji – Virologija

HSV 1 i HSV 2 opstanak zavisi od mnogih faktora, uključujući vrstu i koncentraciju mikroorganizama, trajanje transporta i temperaturu skladištenja. Da bi se održala optimalna održivost, uzorke bi trebalo transportovati direktno u laboratoriju, po mogućnosti u roku od 2 sata od sakupljanja ^(1, 2, 7, 29). Ako se trenutna isporuka ili obrada odloži, uzorke sakupljene pomoću Copan MSwab® sistemom za sakupljanje, transport i čuvanje bi trebalo hladiti na 4-8°C ili skladištiti na sobnoj temperaturi (20-25°C) i obrađivati u roku od 48 sati. Ako se uzorci moraju zamrznuti, trebalo bi ih zamrznuti na -70°C. U simuliranim studijama transporta i skladištenja pokazalo se da je Copan MSwab® sistem sposoban da održi održivost HSV 1 i HSV 2 u uslovima hladnjaka (4-8°C) i sobne temperature (20-25°C) do 48 sati. Na osnovu studija performansi koje je sprovela kompanija „Copan“ i nezavisnih naučnih publikacija, održivost određenih mikroorganizama je superiornija na temperaturama u hladnjaku u poređenju sa sobnom temperaturom ^(12 - 21, 29).

MSwab® uzorke bi trebalo obrađivati za virološku kulturu uz upotrebu preporučenih linija ćelija i laboratorijskih tehnika koje će zavisiti od vrste uzorka i mikroorganizma koji se ispituje. Za preporučene bočice sa školjkom i tehnike za izolaciju i identifikaciju HSV 1 i HSV 2 iz kliničkih uzoraka briseva, pogledajte objavljene mikrobiološke priručnike i smernice ^(1 - 6, 29, 30).

Istraživanja kulture uzoraka briseva na prisustvo HSV 1 i HSV 2 rutinski uključuju upotrebu kulture ćelija u bočicama sa školjkom. Postupak za inokulaciju MSwab® uzoraka u bočice sa školjkom je opisan u nastavku.

NAPOMENA: Nosite rukavice od lateksa i drugu zaštitu srazmernu univerzalnim merama predostrožnosti prilikom rukovanja kliničkim uzorcima. Pridržavajte se ostalih BSL 2 preporuka.

Format kompleta za sakupljanje:

1. Protresite MSwab® epruvetu koja sadrži uzorak briseva pomoću vorteks miksera 5 sekundi, da biste oslobodili uzorak sa vrha briseva i ravnomerno raspršili i suspendovali uzorak pacijenta u tečnom sredstvu za transport.
2. Odmrite MSwab® kapicu i uklonite aplikator brisa.
3. Prenesite 200 µl od zapremine suspenzije u bočicu sa školjkom i nastavite prema internom laboratorijskom postupku.
NAPOMENA: Uzorak pacijenta koji može da sadrži veliko opterećenje bakterijskim zagađivačima može da zahteva dodatne antibiotike u sredstvu za ponovni dovod.
4. Nastavite sa odgovarajućim tehnikama za otkrivanje virusa.

Format samo sa epruvetom:

1. Protresite MSwab® epruvetu koja sadrži uzorak briseva pomoću vorteks miksera 5 sekundi.
2. Odmrite kapicu MSwab® i prenesite 200 µl od zapremine suspenzije u bočicu sa školjkom i nastavite prema internom laboratorijskom postupku. **NAPOMENA:** Uzorak pacijenta koji može da sadrži veliko opterećenje bakterijskim zagađivačima može da zahteva dodatne antibiotike u sredstvu za ponovni dovod.
3. Nastavite sa odgovarajućim tehnikama za otkrivanje virusa.

Obrada MSwab® uzoraka za molekularnu analizu u laboratoriji

Uzorci primljeni u laboratoriji za otkrivanje nukleinske kiseline bi trebalo da se obrade kada se prime u laboratoriji. U slučaju kašnjenja, pogledajte odgovarajuće uslove skladištenja.

NAPOMENA: Prilikom rukovanja kliničkim uzorcima koristite rukavice od lateksa i druga opšta sredstva zaštite. Pratite 2. nivoa biološke bezbednosti (BSL) koji su utvrđeni CDC-om ^(31, 32, 33, 34).

Kada radite sa molekularnim metodama trebalo bi voditi računa da se spreči prenos kontaminacije. Prostorno razdvajanje radnih područja i jednosmerni tok rada su od suštinskog značaja za sprečavanje prenosa ampiklona⁽³⁵⁾.

Formulacija MSwab® sredstva je razvijena da bude kompatibilna sa „PCR Master“ mikserima; to čini sredstvo pogodnim za direktne NAAT testove bez potrebe za standardnim korakom ekstrakcije i prečišćavanja.

Za obradu MSwab® uzorka mogu da se primene dve različite metode (A i B):

A) Standardna metoda ekstrakcije

1. Promesajte MSwab® epruvetu za testiranje u vortekseru 10 sekundi;
2. Odvrnite kapiću (NAPOMENA: za format samo sa epruvetom idite na tačku 4) i, dok je držite između palca i kažiprsta, zavrtite da biste iz vrha izvukli većinu tečnosti.
3. Bacite bris;
4. Prenesite odgovarajući količinu uzorka (npr. 200 µl) u cev za ekstrakciju prema uobičajenim laboratorijskim postupcima. Za šifru 6E013N i 6E092N01, gde funkcija zatvarača nije dostupna, koristite pincetu da izvadite aplikator iz cevi. Budite oprezni i pridržavajte se odgovarajućih mera predostrožnosti da biste zaštitili rukovaoca i životnu sredinu u slučaju prskanja.
5. Nastavite u skladu sa postupcima ekstrakcije i pojačanja korišćenih kompleta.

MSwab® sistem je potvrđen primenom sledećih metoda ekstrakcije: membrana silika-gela („Qiagen“, „Macherey & Nagel“) i magnetne kuglice („easyMAG“, „Qiasymphony“, „Magpure“). Druge metode ekstrakcije su primenljive nakon validacije od strane krajnjeg korisnika.

B) Metoda brze ekstrakcije

Predlaže se korak termičkog šoka za liziranje uzoraka radi otkrivanja virusa.

1. Vorteksujte originalnu epruvetu za testiranje MSwab® uzorka 10 sekundi.
2. Pomoću mikropipete prenesite 200 µl MSwab® uzorka u sterilnu mikro epruvetu koja sadrži staklene kuglice (2E013S50: Copan epruveta sa staklenim kuglicama, dostupna odvojeno) i vorteksujte 10 sekundi. Skladištite originalni MSwab® uzorak za kulturu ili dodatna ispitivanja.
3. Zagrejte mikro epruvetu u termostatu podešenom na 98-100°C najmanje:
 - 3 min ZA VIRUSE
 - 10 min ZA GRAM POZITIVNE BAKTERIJE
 - 5 min ZA GRAM NEGATIVNE BAKTERIJE
4. Ohladite epruvetu za testiranje na sobnoj temperaturi 5 minuta
5. Centrifugujte mikro epruvetu na 10000 xg tokom 2 minuta da bi se ostaci ćelija slegnuli.
6. Prenesite alicvot obrađenog MSwab® uzorka u glavnu smešu i nastavite sa korakom amplifikacije u skladu sa postupkom amplifikacionog kompleta.

Metoda brze ekstrakcije, kao što je gore opisano, testirana je pomoću PC-kompleta „R-Biopharm RIDA®GENE“ u stvarnom vremenu, sa „Seegene Anplex FluA/B“ kompletom za otkrivanje u realnom vremenu i sa „Genesig PCR“ setovima u realnom vremenu kompanije „Primer Design“ u poređenju sa standardnom metodom ekstrakcije. Drugi komplet za amplifikaciju PCR-a takođe može biti primenljiv pre validacije. Testirani sojevi uključuju: B. pertussis (ATCC® 8467), S. aureus (otporan na meticilin) ATCC® 43300, E. coli O157-H7 (ATCC® 700728), S. tymphimurium (ATCC® 14028), C. difficile (ATCC® 9689), Influenza A virus (ATCC® VR-822), Influenza B virus (ATCC® VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC® 43069) i Chlamydia trachomatis (ATCC® VR880). Testovi nisu sprovedeni pomoću ljudskih matrica. Dobijeni rezultati će u velikoj meri da zavisi od pravilnog i adekvatnog sakupljanja uzoraka, kao i blagovremenog transporta i obrade u laboratoriji.

KONTROLA KVALITETA

MSwab® aplikatori su testirani da bi se obezbedilo da nisu toksični za bakterije. MSwab® sredstvo i aplikatori su testirani da bi se obezbedilo da nisu toksični za ćelijske linije koje se koriste za HSV 1 i HSV 2 kultivaciju. MSwab® sredstvo za transport je testirano na pH stabilnost i na odsustvo inhibitora sa direktnom amplifikacijom nukleinske kiseline⁽⁹⁾. MSwab® je kontrola kvaliteta testirana pre puštanja u upotrebu radi održavanja održive gram-pozitivne aerobne i fakultativne anaerobne bakterije i HSV virusa na sobnoj temperaturi (20 - 25°C) tokom određenih vremenskih tačaka. Postupke za kontrolu kvaliteta mikrobioloških transportnih uređaja bi trebalo sprovoditi primenom metoda testiranja opisanih u Institutu za kliničke i laboratorijske standarde M40-A2 i drugim publikacijama⁽⁹⁾. Ako se primete aberantni rezultati kontrole kvaliteta, rezultati pacijenata ne smeju da se izveštavaju.

REZULTATI

Dobijeni rezultati će u velikoj meri da zavise od pravilnog i adekvatnog sakupljanja uzoraka, kao i od brzog transporta i pravilne obrade u laboratoriji.

KARAKTERISTIKE PERFORMANSI

Oporavak bakterija

Postupci testiranja koji se koriste za određivanje performansi održivosti bakterija su se zasnivali na metodama kontrole kvaliteta opisanim u Institutu za kliničke i laboratorijske standarde M40-A2⁽⁹⁾.

MSwab® sistem ima namensku upotrebu ograničenu na gram pozitivne aerobne i fakultativne anaerobne bakterije i HSV 1 i HSV 2, stoga je njegova terenska primena ograničena od nekih drugih uređaja. Iz tog razloga su studije oporavka bakterija sprovedene pod simuliranim uslovima transporta i skladištenja kako su opisani i definisani u CLSI M40-A2. Kontrola kvaliteta mikrobioloških transportnih sistema: Odobreni standard je obuhvatio samo gram-pozitivne aerobne i fakultativne anaerobne vrste iz Grupe 1 paragrafa 7.11.1 dokumenta CLSI M40-A2, posebno:

Streptococcus pyogenes	ATCC® 19615
Streptococcus pneumoniae	ATCC® 6305
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® BAA-427

Pored toga, kompanija „Copan“ je uključila testiranje dodatnih gram pozitivnih aerobnih i fakultativnih anaerobnih mikroorganizama, klinički relevantnih, koji nisu potrebni u CLSI M40-A2. Ovdje su navedeni specifični sojevi bakterija korišćeni u ovim studijama:

Enterococcus faecalis	ATCC® 29212
Staphylococcus epidermidis	ATCC® 12228

Staphylococcus aureus	ATCC® 29213
Streptococcus agalactiae (B Strep grupa)	ATCC® 13813
Listeria monocytogenes	ATCC® 19114
Bacillus cereus	ATCC® 10876
Staphylococcus aureus (otporen na meticilin)	ATCC® 43300
Staphylococcus aureus	ATCC® 6538
Staphylococcus aureus (otporen na meticilin)	ATCC® 700698

Sve kulture bakterija bile su ATCC® (američki način sakupljanja kulture) i dobijene su komercijalno.

Izbor ovih organizama takođe odražava gram pozitivne aerobne i fakultativne anaerobne bakterije koje bi obično mogle da se nađu u uzorcima sakupljenim i analiziranim u tipičnoj laboratoriji za kliničku mikrobiologiju.

Studije održivosti bakterija sprovedene su na Copan MSwab® sistemu u dva različita raspona temperature, 4 - 8°C i 20 - 25°C, što odgovara hladnjaku, odnosno sobnoj temperaturi. Brisevi koji prate svaki sistem za transport su inokulirani u tri primerka sa 100 µl specifičnih koncentracija suspenzije organizma. Brisevi se zatim stavljaju u odgovarajuće epruvete za sredstvo za transport i tu se drže 0 sati, 24 sata i 48 sati. U odgovarajućim vremenskim intervalima, svaki bris je obrađen u skladu sa „Roll-Plate“ metodom ili metodom elucije brisa.

Dodatne studije održivosti bakterija za Staphylococcus aureus, ATCC® 29213 i ATCC® 6538 i Staphylococcus aureus (otporne na meticilin) ATCC® 43300 i ATCC® 700698 sprovedene su na Copan MSwab® sistemu u dva različita opsega temperature, 4 - 8°C i 20 - 25°C, što odgovara hladnjaku i sobnoj temperaturi.

Bris koji prati sistem za transport je inokuliran u tri primerka sa 100 µl specifičnih koncentracija suspenzije organizma. Brisevi se zatim stavljaju u odgovarajuće epruvete za sredstvo za transport:

Za studije sprovedene na 4 - 8°C, inokulovane MSwab® epruvete su tu držane 0 sati, 10 dana i 14 dana. U odgovarajućim vremenskim intervalima, svaki MSwab® bris je obrađen u skladu sa „Roll-Plate“ metodom.

Za studije sprovedene na 20 - 25°C, inokulovane MSwab® epruvete su tu držane 0 sati i 72 sata. U odgovarajućim vremenskim intervalima, svaki MSwab® bris je obrađen u skladu sa „Roll-Plate“ metodom.

Studije prekomernog rasta bakterija sprovedene su na Copan MSwab® sistemu na 4 - 8°C, što odgovara temperaturi hladnjaka. Brisevi koji prate svaki sistem za transport su inokulirani u tri primerka sa 100 µl specifičnih koncentracija suspenzije organizma. Brisevi se zatim stavljaju u odgovarajuće epruvete za sredstvo za transport i tu se drže 0 sati i 48 sati. U odgovarajućim vremenskim intervalima, svaki bris je obrađen u skladu sa „Roll-Plate“ metodom.

Studije prekomernog rasta bakterija sprovedene su pomoću Pseudomonas aeruginosa.

Studije virusne infektivnosti izvedene su pomoću HSV 1 i HSV 2. Brisevi koji prate svaki sistem za transport su direktno inokulirani u tri primerka sa 100 µl virusne suspenzije. Brisevi se zatim stavljaju u odgovarajuće epruvete za sredstvo za transport i tu se drže 0, 24 sata i 48 sati na temperaturi od 4°C i na sobnoj temperaturi (20-25°C). U odgovarajućem vremenskom intervalu, svaki bris se vorteksuje, vadi iz cevi za transportno sredstvo, a zatim se 200 µl alikvota ove suspenzije inokulira u bočice sa školjkom. Sve kulture se obrađuju standardnom laboratorijskom tehnikom kulture i testiraju nakon određenog vremena inkubacije. Virusna infektivnost je određena brojanjem fluorescentnih žarišta.

Ocenjeni virusi su bili:

Virus herpes simpleks tip 1 (HSV 1)	ATCC® VR-539
Virus herpes simpleks tip 2 (HSV 2)	ATCC® VR-734.

U skladu sa Kliničkim i laboratorijskim institutom za standarde M40-A2, performanse održivosti se mere za svaki testirani mikroorganizam u 48-časovnoj tački i upoređuju se sa kriterijumima prihvatljivosti.

U „Roll-Plate“ studijama performansi održivosti i u eluciji brisa, Copan MSwab® sistem je uspeo da održi prihvatljiv oporavak svih organizama procenjenih i u hladnjaku (4 - 8°C) i na sobnoj temperaturi (20 - 25°C). Prihvatljivi oporavak za „Roll-Plate“ metodu je definisan kao ≥5 CFU nakon određenog vremena zadržavanja iz određenog razblaženja koje je dalo brojeve pločica sa nulnim vremenom najbliže 300 CFU. Prihvatljivi oporavak za metodu elucije briseva definisan je kao ne više od 3 log10 (1 x 103 +/- 10%) smanjenja CFU između CFU broja sa nulnim vremenom i CFU briseva nakon navedenog vremena zadržavanja.

Dodatne vremenske tačke su testirane za Staphylococcus aureus, ATCC® 29213 i ATCC® 6538, i Staphylococcus aureus (otporen na meticilin) ATCC® 43300 i ATCC® 700698.

U „Roll-Plate“ studijama performansi održivosti, Copan MSwab® sistem je uspeo da održi prihvatljiv oporavak svih mikroorganizama procenjenih u hladnjaku (4 - 8°C) 14 dana i na sobnoj temperaturi (20 - 25°C) 72 sata. Prihvatljivi oporavak za „Roll-Plate“ metodu je definisan kao ≥5 CFU nakon određenog vremena zadržavanja iz određenog razblaženja koje je dalo brojeve pločica sa nulnim vremenom najbliže 300 CFU.

Studije performansi održivosti takođe uključuju procenu prekomernog rasta bakterija na hladnim temperaturama (4 - 8°C). Za metodu elucije brisa vrši se procena prekomernog rasta svih vrsta bakterija testiranih u 48 sati zadržavanja. Procena prekomernog rasta korišćenjem metode uklanjanja briseva definiše se kao veće od 1 log10 povećanja CFU između nullog-vremena broja CFU i tačke zadržavanja. Za „Roll-Plate“ metodu, procena prekomernog rasta vrši se odvojenom analizom u kojoj se brisevi doziraju sa 100 µl koji sadrži 102 CFU kulture Pseudomonas aeruginosa. Prekomerni rast pod ovim uslovima definiše se kao veći od 1 log10 porasta CFU između nullog-vremena CFU i vremenske tačke zadržavanja od 48 sati.

Copan MSwab® sistem nije pokazao prekomerni rast na osnovu kriterijuma prihvatljivosti opisanih u Institutu za kliničke i laboratorijske standarde M40-A2.

Copan MSwab® sistem je uspeo da održi infektivnost sledećih virusa najmanje 48 sati i na sobnoj temperaturi (20-25°C) i u frižideru (2-8°C) pod gore opisanim uslovima testiranja: Virus herpes simpleks tip 1, virus herpes simpleks tip 2.

Очување нуклеинске киселине

Узорци прикупљени употребом MSwab® система за анализу помоћу техника апификације нуклеинским киселинама морају да се обраде у року од 14 дана од узorkовања када се чувају на собној температури (20-25°C), у року од 21 дана ако се чувају на температури од 4°C и у року од 6 месеци ако се чувају на -20°C.

Тестови перформанси са Copan MSwab® системом су спроведени помоћу суспензија лабораторијских сојева стављених на FLOQSwabs® брису повезаним са средством. Тестирани сојеви укључују: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (отпоран на метицилин) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, *Influenza A* вирус ATCC® VR-822, *Influenza B* вирус ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 и *C. trachomatis* ATCC® VR880. Тестови перформанси нису спроведени на људским клиничким узорцима и/или матрицама људског порекла.

Добијени резултати ће углавном да зависе од правилног и адекватног сакупљања узорака, као и од брзог транспорта и обраде у лабораторији.

TABELA SIMBOLA

Погледајте tabelу симбола на крају упутства за употребу.

УКРАЌНСКА

Система збору, транспортувања та зберигања Copan MSwab® для застосувања у молекуларних дослїдженњях та дослїдженњях култур мїкроорганїзмїв

Інструкції з використання

ПРИЗНАЧЕННЯ

Система MSwab® використовується для збору, транспортувања та зберигања клиничних зразків від місця збору до дослїдницької лабораторїї.

У лабораторїї анализ зразків, зібраних до системи MSwab®, можна проводити з використанням стандартних клиничних процедур для:

- бактериологичного посїву аеробних та факультативних анаеробних грам-позитивних мїкроорганїзмїв
- култура вирусів вирусів HSV 1 і HSV 2
- виявлення (чи дослїдження) нуклеїнових кислот, бактерїї і вирусів.

КОРТОКИЙ ОПИС ТА ОСНОВНІ ПОЯСНЕННЯ

Одна з рутинних процедур дїагностики бактериологичних инфекцій включає безпечнї збір і транспортувања зразків на зонд-тампонах. Це можна зробити з використанням системи збору, транспортувања и зберигања Copan MSwab®. Середовище розроблено для пїдтримання життєздатностї аеробних та факультативних анаеробних грам-позитивних бактерїї і вирусів HSV 1 і HSV 2 пїд час транспортувања до дослїдницької лабораторїї.

Крім того, система Copan MSwab® дозволяє збереження нуклеїнових кислот патогенів для ідентификації з використанням методів молекулярної амплїфикації (МАНК).

Система збору, транспортувања и зберигања Copan MSwab® постачається у трьох рїзних форматах:

- а) Формат набору для збору. Кожен набір для збору складається з упаковки, яка мїстить пластикову пробїрку з гвинтовим ковпачком і денцем конїчної форми, заповнену 1 мл або 3 мл транспортного та консервувального середовища MSwab®, і маленькїй стерильний термозварований пакет, у якому мїститься один зонд-тампон для збору зразка FLOQSwabs®, який має накінецьник із нейлонового флок-волокна.
- б) Формат тїльки з пробїркою. Пластикова пробїрка з гвинтовим ковпачком і денцем конїчної форми, заповнена 1 мл, 2 мл або 3 мл транспортного та консервувального середовища MSwab®.
- в) Формат набору для збору із зонд-тампоном для очищення. Кожен набір для збору складається з упаковки, яка мїстить пластикову пробїрку з гвинтовим ковпачком і денцем конїчної форми, заповнену 2 мл транспортного та консервувального середовища MSwab®, і маленькїй стерильний термозварований пакет, у якому мїститься один зонд-тампон для збору зразка FLOQSwabs®, який має накінецьник із нейлонового флок-волокна, і також стерильний термозварований пакет, у якому мїститься один зонд-тампон для очищення з великим накінецьником із волокна для видалення надлишку вагїнального слизу.

Пїсля збору зразка з використанням зонд-тампона його вїдразу ж слїд помїстити в тестову пробїрку MSwab® із транспортним та консервувальним середовищем. Зразки, зібранї з використанням системи MSwab® і призначенї для анализу з використанням методів культивувања бактерїї або вирусів, слїд транспортувати безпосередньо до лабораторїї, бажано протягом 2 годин із моменту збору^(1, 2, 7), для збереження оптимальної життєздатностї мїкроорганїзмїв. Якщо безпосередню доставку чи анализ доводиться вїдкласти, зразки слїд помїстити в холодильник з температурою 4-8°C чи зберїгати за кїмнатної температури (20-25°C) і провести анализ протягом 48 годин із моменту збору зразків. Дослїдження бактерїї на життєздатнїсть для *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 і ATCC® 6538, а також *Staphylococcus aureus* (метицилінрезистентний) ATCC® 43300 і ATCC® 700698 продемонстрували життєздатнїсть тестованих мїкроорганїзмїв протягом максимум 14 днїв в охолодженому середовищі (4-8°C) чи 72 годин за кїмнатної температури (20-25°C). Незалежнї науковї дослїдження систем транспортувања зонд-тампонів продемонстрували, що життєздатнїсть певних бактерїї краща за температуру охолодження, нїж за кїмнатної температури⁽¹²⁻²¹⁾.

Якщо зразки вирусів слїд заморозити, це потрїбно зробити за температури -70°C.

Анализ зразків, зібраних за допомогою системи MSwab® для виявлення нуклеїнових кислот бактерїї і вирусів, слїд провести протягом 14 днїв за умов зберигања за кїмнатної температури (20-25°C) і протягом 21 днїв за умов зберигања за температури 4°C і протягом 6 мїсяцїв за умов зберигања за температури -20°C.

РЕАГЕНТИ**Склад транспортного середовища MSwab®**

Дистильована вода

Органічний розчинник

Буфер

Альбумін з бичачої сироватки

рН: 8,5 ± 0,20

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ ДО КОМПЛЕКТУ ПОСТАЧАННЯ

Матеріали, придатні для бактеріологічного посіву та виділення аеробних та факультативних анаеробних грам-позитивних бактерій.

Ці матеріали включають культуральні планшети або тестові пробірки та інкубаційні системи. Інформацію про рекомендовані протоколи відносно методів посіву та ідентифікації аеробних та факультативних анаеробних бактерій із зонд-тампонів з клінічними зразками див. в інструкціях з проведення лабораторних робіт^(2,4). Матеріали, придатні для виділення, диференціації та культивування вірусу. Ці матеріали включають клітинні лінії для тканинних культур, культуральні середовища для тканин, інкубаційні системи та зчитувальні прилади. Рекомендовані протоколи з виділення та ідентифікації вірусів див. у відповідних джерелах^(1,7). Матеріали, придатні для екстракції та ампліфікації нуклеїнових кислот для молекулярного біологічного тестування. Блок підігріву та центрифугування для методів швидкої екстракції. Інформацію про ідентифікацію та ампліфікацію нуклеїнових кислот з клінічних зразків із зонд-тампонів див. у лабораторних довідкових посібниках.

Для методів швидкої екстракції рекомендовано перенести відповідну аліквотну частину середовища MSwab® (див. розділ **Обробка зразків MSwab® для молекулярного тестування в лабораторії, метод В**) у тестові пробірки Copan зі скляними кульками (можна придбати окремо за кодом 2E013S50).

ЗБЕРІГАННЯ ПРОДУКТУ

Цей продукт готовий до використання і не потребує подальшої підготовки. Його слід зберігати в оригінальному контейнері за температури 5-25°C до моменту використання. Не перегрівайте його. Не витримуйте в термостаті і не заморожуйте перед використанням. Неналежне зберігання призведе до втрати ефективності продукту. Не використовуйте після завершення терміну придатності, який чітко надруковано на зовнішній коробці, на кожному окремому стерильному наборі для збору та етикетці пробірки для транспортування зразка.

ЗБІР, ТРАНСПОРТУВАННЯ І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКА

Зразки, які збираються для мікробіологічних досліджень, що включають виділення бактерій або вірусів, слід збирати й поводитися з ними із дотриманням вимог опублікованих посібників і рекомендацій^(7,8,4).

Для підтримання оптимальної життєздатності мікроорганізмів та цілісності нуклеотидних кислот транспортуйте зібрані з використанням MSwab® зразки безпосередньо до лабораторії, бажано протягом 2 годин із моменту збору^(1,2,7). Якщо безпосередню доставку чи аналіз доводитись відкласти, зразки слід помістити в холодильник з температурою 4-8°C чи зберігати за кімнатної температури (20-25°C) та обробити протягом 48 годин. Дослідження бактерій на життєздатність для *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 і ATCC® 6538, а також *Staphylococcus aureus* (метицилінрезистентний) ATCC® 43300 і ATCC® 700698 продемонстрували життєздатність тестованих мікроорганізмів протягом максимум 14 днів в охолоджуваному середовищі (4-8°C) чи 72 годин за кімнатної температури (20-25°C). Якщо зразки вірусів слід заморозити, це потрібно зробити за температури -70°C.

Аналіз зразків, зібраних за допомогою системи MSwab® для використання методів молекулярної ампліфікації (МАНК), слід провести протягом 14 днів за умов зберігання за кімнатної температури (20-25°C), протягом 21 дня за умов зберігання за температури 4°C і протягом 6 місяців за умов зберігання за температури -20°C.

Тестування ефективності системи Copan MSwab® проводилося з використанням суспензій лабораторних штамів, нанесених на зонд-тампон FLOQSwabs®, що відноситься до середовища. Досліджувані штами включали в себе, серед інших: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (метицилінрезистентний) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. typhimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, вірус Influenza A ATCC® VR-822, вірус Influenza B ATCC® VR 786, *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 43069 і *Chlamydia trachomatis* ATCC® VR880. Тестування ефективності з використанням людських зразків чи людських матриксів не проводилося.

Особливі вимоги щодо транспортування й поводження із зразками мають повністю відповідати нормативним вимогам штату й федеральним нормативам^(34, 35, 36, 37). Транспортування зразків у медичних закладах має повністю відповідати внутрішнім нормативним документам закладу. Усі зразки слід обробити в лабораторії якомога швидше після отримання.

МАТЕРІАЛИ, ЩО ВХОДЯТЬ ДО КОМПЛЕКТУ ПОСТАЧАННЯ

В коробці міститься п'ятдесят (50) одиниць системи Copan MSwab®, а в картонному коробі міститься 6 коробок х 50 одиниць.

Система збору, транспортування й зберігання Copan MSwab® постачається у трьох різних форматах:

1. Формат набору для збору: кожен набір для збору складається з упаковки, яка містить пластикову пробірку з гвинтовим ковпачком і денцем конічної форми, заповнену 1 мл або 3 мл транспортного та консервувального середовища MSwab®, і маленький стерильний термозварюваний пакет, у якому міститься один зонд-тампон для збору зразка FLOQSwabs®, який має накінецьник із нейлонового флок-волокна (мал. 2а).
2. Формат тільки з пробіркою: пластикова пробірка з гвинтовим ковпачком і денцем конічної форми, заповнена 1 мл 2 мл або 3 мл транспортного та консервувального середовища MSwab®.
3. Формат набору для збору із зонд-тампоном для очищення: кожен набір для збору складається з упаковки, яка містить пластикову пробірку з гвинтовим ковпачком і денцем конічної форми, заповнену 2 мл транспортного та консервувального середовища MSwab®, і маленький стерильний термозварюваний пакет, у якому міститься один зонд-тампон для збору зразка FLOQSwabs®, який має накінецьник із нейлонового флок-волокна (мал. 2а), і також стерильний термозварюваний пакет, у якому міститься один зонд-тампон для очищення з великим накінецьником із волокна для видалення надлишку вагінального слизу (мал. 2б).

Є два типи зонд-тампонів для збору зразків: зонд-тампон стандартного розміру з накінецьником із нейлонового флок-волокна, призначений для збору зразків із таких анатомічних ділянок, як глотка, вагіна, рани, пряма кишка та фекалії; пучкий зонд-тампон із міні-накінецьником із нейлонового флок-волокна для збору зразків з носоглотки. Усі зонд-тампони з флок-волокна, що постачаються з системою MSwab®, мають на стержні місце переламування, позначене кольоровою лінією.

Після збирання зразка у пацієнта формоване місце переламування спрощує відламування аплікатора у тестовій пробірці, яка містить транспортне середовище MSwab®. Спеціальна конструкція фіксуючих ковпачків і тестових пробірок дозволяє зафіксувати стрижень зонд-тампона після його відламування та закривання ковпачка (див. мал. 1).

Під час закручування ковпачка на тестовій пробірці кінець стрижня зміщується в порожнину ковпачка. Коли тестову пробірку відкривають у дослідницькій лабораторії, аплікатор залишається прикріпленим до ковпачка, і операторові зручно витягати зонд-тампон із транспортної пробірки й виконувати мікробіологічні аналізи, використовуючи ковпачок пробірки як ручку для тримання аплікатора зонд-тампона.

Функція фіксуючого ковпачка «Capture Cap» гарантовано діє лише за умови використання зонд-тампонів із флок-волокна стандартного розміру.

Функція «Capture Cap» не властива для перназальних зонд-тампонів (REF. 6E013N та 6E092N01).

Мал. 1 – фіксація відламаного стержня зонд-тампона у ковпачку тестової пробірки MSwab®



ОБМЕЖЕННЯ

- Стан, терміни обробки й об'єм зразків, зібраних для культивування, є важливими змінними значеннями для отримання надійних результатів. Дотримуйтеся рекомендацій зі збору зразків^(7, 8, 4).
- MSwab® можна використовувати як збагачувальне, селективне або диференціальне середовище.
- Середовище MSwab® не містить антибіотики. Для зразків пацієнтів із високим навантаженням бактеріальних забруднювачів може знадобитися додати антибіотики для консервування клітин та культурального поживного середовища.
- Тести ефективності системи Coran ESwab® проводилися з використанням лабораторних штамів, нанесених на зонд-тампон із дотриманням протоколів тестування, описаних у затверженому стандарті Clinical Laboratory Standards Institute M40-A2⁽⁹⁾. Тести ефективності з використанням людських зразків не проводилися.
- Тести ефективності Coran MSwab® проводилися з використанням зонд-тампонів із флок-волокна Coran.
- Вживайте необхідних застережних заходів для уникнення біологічного ризику та застосовуйте схвалені асептичні методи. Продукт може використовуватися лише кваліфікованим персоналом, який пройшов належне навчання.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ

- Під час поводження з клінічними зразками у лабораторії необхідно надягати рукавички та інше захисне обладнання. Під час поводження чи аналізу зразків пацієнта дотримуйтеся умов для рівня біологічної безпеки 2, встановлених Центром із контролю та профілактики захворюваності США (CDC)^(31, 32, 33, 34).
- Для застосування у діагностиці in vitro.
- Не слід повторно стерилізувати невикористані зонд-тампони.
- Цей продукт призначений лише для одноразового використання; повторне використання може призвести до ризику інфікування та (або) неточних результатів.
- Не запаковуйте відкритий продукт знову.
- Продукт не придатний для будь-яких інших задач, окрім використання за призначенням.
- Користувач повинен попередньо узгоджувати використання цього продукту разом із комплектами для швидкої діагностики або з діагностичним обладнанням.
- Не застосовуйте надмірне зусилля, тиск і не згинайте стрижень під час збору зразків у пацієнтів, оскільки це може призвести до випадкового пошкодження стрижня тампона.
- Не використовуйте одну тестову пробірку для кількох пацієнтів. Це призведе до неправильної діагностики. Перед транспортуванням пересвідчіться, що ковпачок системи MSwab® міцно закручено.
- Не згинайте зонд-тампон перед використанням.
- Не використовуйте середовище MSwab® для попереднього зволоження або намочування аплікатора зонд-тампона перед збором зразка або зволоження місць збору зразків.
- Уникайте контакту середовища MSwab® зі шкірою і слизовими оболонками. У разі контакту змийте великою кількістю води.
- Не ковтайте транспортне середовище.
- Уважно дотримуйтеся інструкцій з використання.
- З продуктом можуть працювати лише особи, які пройшли належне навчання.
- Дотримуйтеся асептичних методів і схвалених запобіжних заходів щодо біологічно небезпечних матеріалів.
- У випадку повторного заморожування та розморожування зразків виявлення життєздатних мікроорганізмів може погіршуватися^(8,35).
- Умови, час збирання та об'єм зразків, відібраних для культивування, є змінними факторами, що істотно впливають на надійність результатів культивування. Дотримуйтеся рекомендованих настанов щодо збирання зразків.
- Слід припускати, що всі зразки містять інфекційні мікроорганізми, тому рекомендована максимальна обережність. Після використання утилізуйте тестові пробірки та зонд-тампони згідно з лабораторними процедурами для інфікованих відходів. Дотримуйтеся рекомендацій Центру профілактики й контролю захворювань для рівня біологічної безпеки 2^(31, 32, 33, 34). Утилізуйте невикористані реагенти, відходи та зразки відповідно до місцевих нормативних вимог.

- Не використовуйте систему MSwab® у разі (1) наявності пошкоджень продукту (наприклад, якщо накінецьник або стрижень зонд-тампона зламано) або забруднення продукту, (2) наявності витоку, (3) завершення терміну придатності, (4) відкритої упаковки зонд-тампона або (5) інших ознак фізичного пошкодження.
- Через свою геометрію гнучкий зонд-тампон з міні-накінецьником може скручуватися під час розміщення в пробірці, тому, якщо потрібно буде витягти зонд-тампон із пробірки, приділіть увагу та дотримуйтеся належних запобіжних заходів щодо біологічно небезпечних матеріалів для захисту оператора і середовища на випадок появи бризок.
- Перевірте версію інструкцій з використання. Правильна версія інструкцій постачається з продуктом або доступна в електронному форматі; її можна ідентифікувати за індикатором e-IFU на етикетці упаковок.

ІНСТРУКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯ

Система MSwab® готова до використання і не потребує подальшої підготовки. Вона доступна у різних конфігураціях, відображених у таблиці 1.

REF.	Опис продукту Copan MSwab®	Упаковка
6E012N	Комплект для збору зразків містить: - Тестову пробірку 12x80 мм із гвинтовим ковпачком, в якій міститься 1 мл середовища для консервування й транспортування MSwab®. - Зонд-тампон стандартного розміру FLOQSwabs® з накінецьником із нейлонового флок-волокна, стерильний та в індивідуальній упаковці.	50 одиниць/коробці, 6x50 одиниць/картонному коробі
6E013N	Комплект для збору зразків містить: - Тестову пробірку 12x80 мм із гвинтовим ковпачком, в якій міститься 1 мл середовища для консервування й транспортування MSwab®. - Гнучкий зонд-тампон із міні-накінецьником із нейлонового флок-волокна, стерильний та в індивідуальній упаковці.	50 одиниць/коробці, 6x50 одиниць/картонному коробі
6E092N01	Одноразова пробірка для транспортування та консервування містить: - Тестову пробірку 16x100 мм з круглим денцем та гвинтовим ковпачком, в якій міститься 3 мл середовища для консервування й транспортування MSwab®. - Гнучкий зонд-тампон з мінінакінецьником з нейлонового флок-волокна, стерильний та в індивідуальній упаковці.	50 одиниць/коробці, 6x50 одиниць/картонному коробі
6E011N	Одноразова пробірка для транспортування та зберігання: - Тестова пробірка 12x80 мм з конічним денцем та гвинтовим ковпачком, в якій міститься 1 мл середовища для консервування й транспортування MSwab®.	50 одиниць/коробці, 6x50 одиниць/картонному коробі
6U019N	Одноразова пробірка для транспортування та зберігання: - Тестова пробірка 12x80 мм з конічним денцем та гвинтовим ковпачком, в якій міститься 2 мл середовища для консервування й транспортування MSwab®.	50 одиниць/коробці, 6x50 одиниць/картонному коробі
6E076N	Одноразова пробірка для транспортування та зберігання: - Тестова пробірка 12x80 мм з конічним денцем та гвинтовим ковпачком, в якій міститься 3 мл середовища для консервування й транспортування MSwab®.	50 одиниць/коробці, 6x50 одиниць/картонному коробі
6E028N.MER	Одноразовий комплект для збору зразків містить: - Тестову пробірку 12x80 мм із гвинтовим ковпачком, в якій міститься 2 мл середовища для зберігання й транспортування MSwab®. - Зонд-тампон стандартного розміру FLOQSwabs® з накінецьником із нейлонового флок-волокна, стерильний та в індивідуальній упаковці. - Зонд-тампон для очищення з великим накінецьником із віскозного волокна, стерильний та в індивідуальній упаковці.	50 одиниць/коробці, 6x50 одиниць/картонному коробі

Таблиця 1.

Збір зразка

Належний збір зразка у пацієнта надзвичайно важливий для успішного виділення й ідентифікації інфекційних мікроорганізмів. Конкретні вказівки щодо процедур збору зразка див. у надрукованих довідкових посібниках^(7,2).

Для виробів MSwab® з кодами 6E012N, 6E013N і 6E092N01:

- Відкрийте упаковку набору MSwab®, витягніть тестову пробірку, в якій міститься середовище, та внутрішній пакет, у якому міститься стерильний зонд-тампон.
- Витягніть стерильний зонд-тампон із пакета (див. мал. 2) і зберіть клінічний зразок. Операторові дозволяється тримати аплікатор зонд-тампона тільки так, як показано на малюнку 2 – лише вище кольорової вказівної риски місця переламування, що з протилежного кінця від накінецьника з нейлонового волокна. Щоразу, тримаючи аплікатор зонд-тампона, оператор не повинен торкатися ділянки аплікатора зонд-тампона нижче кольорової вказівної риски місця переламування (це ділянка від rischi до накінецьника зонд-тампона із нейлонового флок-волокна), оскільки це призведе до контамінації стрижня аплікатора і подальшого посіву; для запобігання ризику контамінації пересвідчіться, що з місцем збору зразка контактує лише накінецьник зонд-тампона.
- Візьміть зразок у пацієнта.
- Відгвинтіть і зніміть ковпачок пробірки MSwab®, намагаючись не вилити середовище.
- Після збору зразка вставте зонд-тампон у тестову пробірку, щоб місце переламування розташовувалося на рівні отвору пробірки.

Зігніть стрижень зонд-тампона під кутом 180 градусів, щоб зламати у місці переламування з червоною міткою. За потреби обережно поверніть стрижень зонд-тампона, щоб закінчити переламування, і приберіть верхню частину стрижня зонд-тампона (мал. 2).

6. Утилізуйте відлану частину стрижня зонд-тампона у затвердженому контейнері для утилізації медичних відходів.
7. Надягніть ковпачок на пробірку і міцно закрутіть.
8. Напишіть ім'я та дані пацієнта на етикетці тестової пробірки або наклейте ідентифікаційну етикетку пацієнта.
9. Відправте зразок у лабораторію.

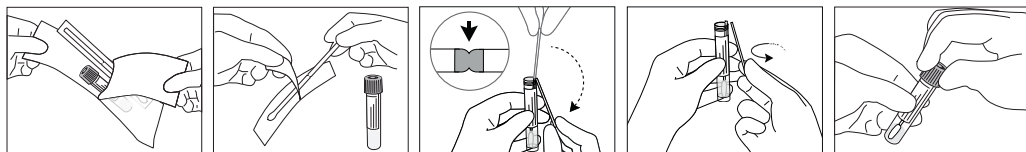
Для продукту MSwab® із кодом 6E028N.MER:

1. Відкрийте упаковку набору, витягніть тестову пробірку, в якій міститься транспортне середовище та два внутрішні пакети – один із стерильним зонд-тампоном, і другий із «зонд-тампоном для очищення».
2. Використання зонд-тампона для очищення рекомендоване лише для процедури збору ендоцервікального зразка. Зонд-тампон для очищення з великим волоконним наконечником (див. мал. 2.b) використовується лише для прибирання надлишку слизу на рівні отвору шийки матки та оточуючих слизових оболонках. Після використання утилізуйте зонд-тампон у затвердженому контейнері для побутових відходів.
У разі використання в процедурах збору інших зразків, крім зразків із шийки матки, зонд-тампон не слід застосовувати, натомість його потрібно утилізувати.
3. Для збору клінічних зразків виконайте інструкції для продуктів із кодами 6E012N, 6E013N і 6E092N01, починаючи з кроку 2.

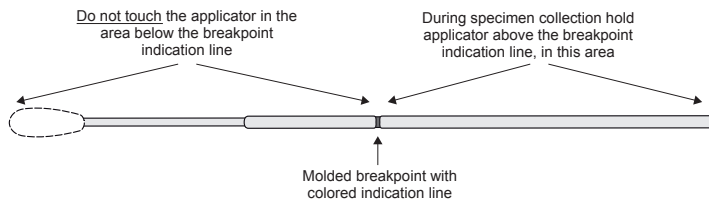
Для виробів MSwab® з кодами 6E011N 6U019N і 6E076N:

1. Після збирання зразка у пацієнта з використанням зонд-тампона скрутіть і змініть ковпачок із тестової пробірки MSwab®, намагаючись не вилити транспортне середовище.
2. Вставте зонд-тампон у тестову пробірку.
3. Якщо на зонд-тампоні є місце переламування, зігніть і зламайте зонд-тампон у місці переламування, тримаючи тестову пробірку подалі від свого обличчя.
4. Надягніть ковпачок на пробірку і міцно закрутіть.
5. Напишіть ім'я та дані пацієнта на етикетці тестової пробірки або наклейте ідентифікаційну етикетку пацієнта.
6. Відправте зразок у лабораторію.

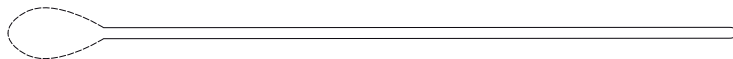
Мал. 2 – зонд-тампон для збору зразків із вказівною рискою місця переламування та зоною тримання апплікатора



Мал. 2.a ЗОНД-ТАМПОН ДЛЯ ЗБОРУ ЗРАЗКІВ



Мал. 2.b ЗОНД-ТАМПОН ДЛЯ ОЧИЩЕННЯ



Обробка зразків MSwab® у лабораторії – бактеріологічні дослідження

Зразки MSwab® слід обробити для бактеріологічного посіву з використанням рекомендованого середовища для посіву і лабораторних методів, які залежать від типу зразка та досліджуваного мікроорганізму. Інформацію про рекомендоване середовище для посіву та методи виділення й ідентифікації бактерій з клінічних зразків із зонд-тампона див. в опублікованих посібниках і рекомендаціях⁽¹⁻⁶⁾. Дослідження посівів зразків із зонд-тампона на наявність бактерій рутинно включають використання твердого агарового середовища для посіву в чашках Петрі. Процедура інокуляції зразків MSwab® на тверде агарове середовище в чашках Петрі проводиться нижчезазначеним чином.

Примітка. Під час поводження з клінічними зразками необхідно надягати латексні рукавички та інше захисне обладнання. Дотримуйтеся решти рекомендацій від Центру профілактики й контролю захворювань для рівня біологічної безпеки 2^(31, 32, 33, 34).

Формат набору для збору (із зонд-тампоном для очищення чи без такого зонда):

За допомогою вихрової мішалки перемішайте вміст пробірки MSwab®, яка містить зразок, зібраний зонд-тампоном, протягом 5 секунд для рівномірного диспергування та суспензування зразка пацієнта у транспортному середовищі.

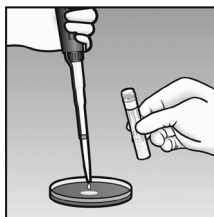
1. Відкрутіть ковпачок пробірки MSwab® і витягніть аплікатор із зонд-тампоном.
2. Прокатайте накінецьник аплікатора MSwab® на поверхні одного квадранта чашки з поживним середовищем для утворення початкового інкуляту.
3. Якщо є необхідність посіву зразка зі зонд-тампона на другій чашці з поживним середовищем, поверніть аплікатор MSwab® у пробірку з транспортним середовищем на дві секунди для всотування й наповнення накінецьника аплікатора суспензією транспортного середовища/зразка пацієнта, а потім повторіть крок 3.
4. Якщо є необхідність інкулювання додаткових чашок із поживним середовищем, повертайте аплікатор MSwab® у пробірку з транспортним середовищем для наповнення накінецьника аплікатора суспензією транспортного середовища/зразка пацієнта перед інкулюванням кожної додаткової чашки.

Описана вище процедура використовує аплікатор MSwab® як мікробіологічну петлю для перенесення суспензії зразка пацієнта у транспортному середовищі на поверхню чашки для культивування з утворенням початкового інкуляту (див. мал. 3). Або ж оператор може за допомогою вихрової мішалки перемішати вміст пробірки MSwab® із зонд-тампоном усередині протягом 5 секунд і перенести 100 мкл від об'єму суспензії на кожну чашку з поживним середовищем з використанням волюметричної піпетки та стерильних накінецьників для піпетки. Для посіву штрихом початкового інкуляту зі зразка пацієнта на поверхні чашки з поживним середовищем потім слід використовувати стандартні лабораторні методи (див. мал. 4).

Формат тільки з пробіркою:

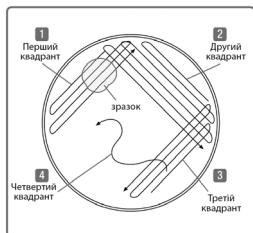
За допомогою вихрової мішалки перемішайте вміст пробірки MSwab®, яка містить зразок, протягом 5 секунд для рівномірного диспергування та суспензування зразка пацієнта у транспортному середовищі. Перенесіть 100 мкл суспензії на кожну чашку з поживним середовищем з використанням волюметричної піпетки та стерильних накінецьників для піпетки. Для посіву штрихом початкового інкуляту зі зразка пацієнта на поверхні чашки з поживним середовищем потім слід використовувати стандартні лабораторні методи (див. мал. 4).

Мал. 3 – Процедури інкуляції зразків MSwab® на тверде агарове середовище у чашках Петрі



1. Використовуйте зонд-тампон для інкуляції зразка.
2. Використовуйте піпетку і стерильні накінецьники для піпетки для інкуляції мінімум 100 мкл зразка.
Така процедура інкуляції має вважатися кращою, якщо клінічний зразок також аналізується з використанням методів молекулярної ампліфікації (МАНК).

Мал. 4 – Процедура посіву штрихом зразка MSwab® на чашках Петрі з агаром для первинного виділення⁽³³⁾



Виконайте посів початкового інкуляту зі зразка MSwab® на поверхню чашки Петрі з належним агаровим поживним середовищем у перший квадрант.

Використовуйте стерильну мікробіологічну петлю для посіву штрихом початкового інкуляту на поверхні другого, третього і четвертого квадрантів чашки з агаровим поживним середовищем.

Підготовка мазків із фарбуванням за Грамом зі зразків MSwab®

Лабораторний аналіз клінічних зразків із зонд-тампонів, зібраних з певних ділянок тіла пацієнта, може рутинно включати мікроскопічне дослідження забарвлених препаратів ("прямі мазки") із використанням процедури фарбування за Грамом. Це може надати цінну інформацію лікарям, які лікують пацієнтів з інфекційними захворюваннями⁽²²⁾. С багатьох прикладів, коли фарбування за Грамом може допомогти у встановленні діагнозу^(23, 27).

Фарбування за Грамом також може допомогти в оцінці якості зразків і сприяти вибору середовища для посіву, особливо для змішаної флори.

Мікроскопічні препарати зразків пацієнта, переміщуваних у транспортній системі Coran MSwab®, можна підготувати для аналізу з фарбуванням за Грамом згідно з описом нижче, шляхом відбору аліквотної частини проби перемішаної вихровою мішалкою суспензії із зонд-тампона^(3, 4). Зразок, транспортований у середовищі для елюювання MSwab®, представляє собою гомогенну суспензію у рідкій фазі. Її можна рівномірно розмазати для чіткого і легкого зчитування.

Примітка. Під час поводження з клінічними зразками необхідно надягати латексні рукавички та інше захисне обладнання. Дотримуйтеся решти рекомендацій від Центру профілактики й контролю захворювань для рівня біологічної безпеки 2^(31, 32, 33, 34).

1. Візьміть чисте мікроскопічне скло, покладіть на пласку поверхню та окресліть ділянку різцем із алмазним накінецьником або подібним різцем для скла для визначення розташування інокуляту зразка. Примітка. Можна використовувати скло із попередньо окресленою лункою 20 мм.
2. За допомогою вихрової мішалки перемішайте вміст пробірки MSwab®, яка містить зразок на зонд-тампоні, протягом 5 секунд для виділення зразка з накінецьника зонд-тампона і рівномірного диспергування та суспензування зразка пацієнта у транспортному середовищі.
3. Відкрутіть ковпачок MSwab® і за допомогою стерильної піпетки перенесіть 1-2 краплі суспензії зразка на окреслену ділянку предметного скла. Примітка. Для попередньо окресленої лунки діаметром 20 мм достатньо буде приблизно 30 мкл рідини.

Для зразків із вмістом крові або з більшою густиною слід приділяти особливу увагу для розподілення зразка на склі тонким шаром. Бактерії важко виявити, якщо у зразку багато червоних кров'яних тілець і часток тканин.

4. Зачекайте, поки зразок на склі висохне на повітрі за кімнатної температури, або покладіть скло в електричний підігрівач для предметного скла чи інкубатор зі встановленою температурою не вище 42°C.
5. Закріпіть мазки в метанолі. Фіксація в метанолі рекомендована, оскільки запобігає розпаду червоних кров'яних тілець, не пошкоджує всі клітини-хазяї і забезпечує чистіший фон для дослідження^(9, 4, 22).
6. Дотримуйтеся опублікованих лабораторних довідкових посібників і рекомендацій щодо проведення фарбування за Грамом. У разі використання комерційно доступних реагентів для фарбування за Грамом важливо виконувати інструкції у вкладиші виробника продукту щодо методики тестування ефективності.

Для отримання додаткової інформації чи рекомендацій щодо підготовки скла зі зразками для мікроскопічного аналізу, інформації про методику фарбування за Грамом та інтерпретації і звітності про мікроскопічний аналіз див. опубліковані лабораторні довідкові посібники^(1-5, 22 - 27).

Обробка зразків MSwab® у лабораторії – вірусологічні дослідження

Живучість вірусів HSV 1 і HSV 2 залежить від багатьох факторів, включно з типом і концентрацією мікроорганізму, тривалістю транспортування і температурою зберігання. Для підтримання оптимальної життєздатності зразки слід транспортувати безпосередньо до лабораторії, бажано протягом 2 годин із моменту збору^(1, 2, 7, 29). Якщо безпосередню доставку чи аналіз доводиться відкласти, тоді зібрані з використанням системи збору, транспортування та зберігання Coran MSwab® зразки слід помістити в холодильник з температурою 4-8°C чи зберігати за кімнатної температури (20-25°C) та обробити протягом 48 годин. Якщо зразки слід заморозити, це потрібно зробити за температури -70°C.

У модельованих дослідженнях транспортування та зберігання система Coran MSwab® продемонструвала здатність підтримувати життєздатність вірусів HSV 1 і HSV 2 в умовах холодильника (4-8°C) та кімнатної температури (20-25°C) протягом максимум 48 годин. На основі досліджень ефективності, проведених Coran, та незалежних наукових досліджень життєздатність певних мікроорганізмів краща за температур охолодження порівняно з кімнатною температурою^(12 - 21, 29).

Зразки MSwab® слід обробити для культивування вірусів з використанням рекомендованої лінії клітин та лабораторних методів, які залежатимуть від типу зразка та досліджуваного мікроорганізму. Інформацію про рекомендовані одношарові культури клітин та методи виділення й ідентифікації вірусів HSV 1 і HSV 2 з клінічних зразків із зонд-тампона див. в опублікованих вірусологічних посібниках і рекомендаціях^(1 - 6, 29, 30).

Дослідження культивованих зразків із зонд-тампона на наявність вірусів HSV 1 і HSV 2 рутинно включають використання одношарових культур клітин. Процедура інокуляції зразків MSwab® в одношарових культурах клітин описана нижче.

ПРИМІТКА. Надягайте латексні рукавички та інші відповідні засоби захисту з дотриманням універсальних застережних заходів під час поводження з клінічними зразками. Дотримуйтеся решти рекомендацій для рівня біологічної безпеки 2.

Формат набору для збору:

1. За допомогою вихрової мішалки протягом 5 секунд перемішайте вміст пробірки MSwab®, яка містить зразок на зонд-тампоні, для виділення зразка з накінецьника зонд-тампона і рівномірного диспергування та суспензування зразка пацієнта у рідкому транспортному середовищі.
2. Відкрутіть ковпачок пробірки MSwab® і витягніть аплікатор із зонд-тампоном.
3. Перенесіть 200 мкл суспензії в одношарову культуру клітин і продовжіть обробку згідно з внутрішньою процедурою лабораторії.
ПРИМІТКА. Для зразка пацієнта з високим навантаженням бактеріальних забруднювачів може знадобитися додати антибіотики до вторинного поживного середовища.
4. Продовжіть обробку з використанням відповідних методів для виявлення вірусів.

Формат тільки з пробіркою:

1. За допомогою вихрової мішалки протягом 5 секунд перемішайте вміст пробірки MSwab®.
2. Відвинтіть ковпачок MSwab® і перенесіть 200 мкл суспензії в одношарову культуру клітин і продовжіть обробку згідно з внутрішньою процедурою лабораторії.
ПРИМІТКА. Для зразка пацієнта з високим навантаженням бактеріальних забруднювачів може знадобитися додати антибіотики до вторинного поживного середовища.
3. Продовжіть обробку з використанням відповідних методів для виявлення вірусів.

Обробка зразків MSwab® для молекулярного аналізу в лабораторії

Зразки, отримані лабораторією для виявлення нуклеїнових кислот, слід обробити під час отримання в лабораторії. У випадку затримки див. належні умови зберігання зразка.

ПРИМІТКА. Використовуйте латексні рукавички та інші загальні засоби захисту під час поводження з клінічними зразками. Дотримуйтеся рекомендацій Центру профілактики й контролю захворювань для рівня біологічної безпеки (BSL) 2^(31, 32, 33, 34).

Під час роботи з молекулярними методами слід бути обережними, щоб запобігти контамінації при перенесенні. Просторове розділення робочих зон і односпрямований робочий процес дуже важливі для запобігання перенесенню амплікона⁽³⁵⁾.

Склад середовища MSwab® було розроблено з огляду на його сумісність із мастер-міксами для ПЦР; це робить його придатним для прямого аналізу МАНК без необхідності проведення стандартного етапу екстракції та очищення.

Для обробки зразків MSwab® можуть застосовуватися два різних методи (А і В):

А) Стандартний метод екстракції

1. Перемішайте вміст тестової пробірки MSwab® у вихровій мішалці протягом 10 секунд;
2. відкритіть ковпачок (ПРИМІТКА: для формату тільки з пробіркою перейдіть до пункту 4) і, тримаючи його між вказівним і великим пальцями, покрутіть, щоб витиснути більшість рідини з накітчика.
3. Утилізуйте зонд-тампон;
4. Перемістіть належну кількість зразка (наприклад, 200 мкл) у пробірку для екстракції відповідно до стандартних процедур лабораторії. Для продукту з кодом 6E013N і 6E092N01, де функція фіксатора аплікатора в ковпачку відсутня, витягайте аплікатор із пробірки піпететом. Будьте обережні й дотримуйтеся належних запобіжних заходів щодо біологічно небезпечних матеріалів для захисту оператора та доквілля у разі розбризкування зразка.
5. Продовжуйте відповідно до процедур екстракції та ампліфікації для використовуваних наборів.

Систему MSwab® було затверджено для використання таких методів екстракції: силікагелева мембрана (Qiagen, Macherey & Nagel) і магнітні носії (easyMAG, Qiasymphony, Magpure). Інші методи екстракції застосовують після затвердження кінцевим користувачем.

В) Швидкий метод екстракції

Для лізису зразків із метою виявлення вірусів рекомендований етап температурного шоку.

1. За допомогою вихрової мішалки перемішайте зразок в оригінальній тестовій пробірці MSwab® протягом 10 секунд. Мікропіпеткою перенесіть 200 мкл зразка MSwab® у стерильну тестову мікропробірку зі скляними кульками (2E013S50: тестова пробірка Copan зі скляними кульками, можна придбати окремо) і перемішайте у вихровій мішалці протягом 10 секунд. Зберігайте оригінальний зразок MSwab® для культивування чи додаткового тестування.
3. Розігрійте тестову мікропробірку у термостаті, налаштованому на температуру 98-100°C, протягом щонайменше:
 - 3 хв ДЛЯ ВІРУСІВ
 - 10 хв ДЛЯ ГРАМ-ПОЗИТИВНИХ БАКТЕРІЙ
 - 5 хв ДЛЯ ГРАМ-НЕГАТИВНИХ БАКТЕРІЙ
4. Охолодіть тестову пробірку за кімнатної температури протягом 5 хвилин
5. Виконайте центрифугування тестової мікропробірки з 10000хg протягом 2 хвилин для осаджування клітинного дебрису.
6. Перенесіть аліквотну частину зразка MSwab® у мастер-мікс і перейдіть до етапу ампліфікації відповідно до процедури для комплекту з ампліфікацією.

Швидкий метод екстракції, описаний вище, було протестовано з використанням наборів для ПЦР-досліджень R-Biopharm RIDA® GENE Real Time PCR, із набором для виявлення Seegene Anyplex FluA/B Typing Real Time і наборами Genesig Real Time PCR від Primer Design у порівнянні зі стандартним методом екстракції. Інші методи ампліфікації ПЦР також можуть застосовуватися за умов попереднього затвердження. Досліджувані штами включали в себе, серед інших: B. pertussis (ATCC® 8467), S. aureus (метицилінрезистентний) (ATCC® 43300), E. coli O157-H7 (ATCC® 700728), S. tiphimurium (ATCC® 14028), C. difficile (ATCC® 9689), вірус Influenza A (ATCC® VR-822), вірус Influenza B (ATCC® VR 786), Neisseria gonorrhoeae (ATCC® 43069) і Chlamydia trachomatis (ATCC® VR880). Тести з використанням людських матриксів не проводилися. Отримані результати будуть значною мірою залежати від правильного та відповідного вимогам збору зразка, а також своєчасності транспортування й обробки в лабораторії.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Аплікатори MSwab® було протестовано для гарантування нетоксичності для бактерій. Середовище та аплікатори MSwab® було протестовано для гарантування нетоксичності для клітинних ліній, використовуваних для вирощування вірусів HSV 1 і HSV 2. Транспортне середовище MSwab® було протестовано на стабільність показника pH і відсутність інгібіторів з прямою ампліфікацією нуклеїнових кислот⁽⁹⁾. Система MSwab® пройшла перед випуском тестування контролю якості щодо можливості підтримання життєздатності грам-позитивних аеробних та факультативних анаеробних бактерій і вірусів HSV за кімнатної температури (20-25°C) для визначених часових точок. Процедури контролю якості обладнання для транспортування мікробіологічних матеріалів мають проводитися із використанням методів тестування, описаних у стандартах Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2 та інших публікаціях⁽⁹⁾. У разі отримання порушених результатів контролю якості результати пацієнта не буде внесено у звіт.

РЕЗУЛЬТАТИ

Отримані результати будуть значною мірою залежати від правильного та відповідного вимогам збору зразка, а також своєчасності транспортування й правильності обробки в лабораторії.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕФЕКТИВНОСТІ

Відновлення бактерій

Тестові процедури, використовувані для визначення ефективності підтримання життєздатності бактерій, базувалися на методах контролю якості, описаних у стандартах Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2⁽⁹⁾.

Система MSwab® має цільове призначення, обмежене грам-позитивними аеробними та факультативними анаеробними бактеріями та вірусами HSV 1 і HSV 2, тому його застосування в польових умовах більш обмежене, ніж для деякого іншого обладнання. З цієї причини дослідження відновлення бактерій проводилися відповідно до модельованих умов транспортування й зберігання згідно з описом і затвердженням визначенням у стандарті контролю якості для систем транспортування мікробіологічних матеріалів CLSI M40-A2, Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard та включали тільки грам-позитивні аеробні та факультативні анаеробні штами з групи 1 параграфу 7.11.1 документа CLSI M40-A2, зокрема:

<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® BAA-427

Крім того, Coran включила тестування додаткових грам-позитивних аеробних і факультативних анаеробних мікроорганізмів, клінічно значимих, які не вимагаються стандартом CLSI M40-A2. Нижче перераховані конкретні штами бактерій, використовувани в цих дослідженнях:

<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC® 29212
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC® 12228
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 29213
<i>Streptococcus agalactiae</i> (стрептокок групи B)	ATCC® 13813
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC® 19114
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC® 10876
<i>Staphylococcus aureus</i> (метицилінрезистентний)	ATCC® 43300
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 6538
<i>Staphylococcus aureus</i> (метицилінрезистентний)	ATCC® 700698

Всі культури бактерій належали до колекції ATCC® (Американська колекція типових клітинних культур) і були придбані на комерційних умовах.

Вибір даних мікроорганізмів також відображає ті грам-позитивні аеробні та факультативні анаеробні бактерії, що за нормальних умов виявляються у зразках, зібраних та аналізованих у типовій клінічній лабораторії мікробіології.

Дослідження життєздатності бактерій виконувалися з системою Coran MSwab® для двох різних діапазонів температури: 4-8°C і 20-25°C, що відповідають температурі в холодильнику та кімнатній температурі відповідно. Зонд-тампони, що входять до кожної транспортної системи, було інокульовано у трьох повторях із 100 мкл суспензії мікроорганізмів з питомими концентраціями. Потім зонд-тампони поклали у відповідні пробірки з транспортним середовищем і тримали протягом 0 годин, 24 годин і 48 годин. Із відповідними часовими інтервалами кожен зонд-тампон обробляли відповідно до методів прокатування по чашці Петрі або елюювання зразка із зонд-тампона.

Дослідження бактерій на життєздатність для *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 і ATCC® 6538, а також *Staphylococcus aureus* (метицилінрезистентний) ATCC® 43300 і ATCC® 700698 виконувалися з системою Coran MSwab® для двох різних діапазонів температури 4-8°C і 20-25°C, що відповідають температурі в холодильнику та кімнатній температурі відповідно.

Зонд-тампон, що входить до транспортної системи, було інокульовано у трьох повторях із 100 мкл суспензії мікроорганізмів з питомими концентраціями. Потім зонд-тампони поклали у відповідні пробірки з транспортним середовищем і:

для досліджень, виконуваних за температури 4-8°C, інокульовані пробірки MSwab® тримали протягом 0 годин, 10 днів і 14 днів. Із відповідними часовими інтервалами кожен зонд-тампон MSwab® обробляли відповідно до методу прокатування по чашці Петрі.

Для досліджень, виконуваних за температури 20-25°C, інокульовані пробірки MSwab® тримали протягом 0 годин і 72 годин. Із відповідними часовими інтервалами кожен зонд-тампон MSwab® обробляли відповідно до методу прокатування по чашці Петрі.

Дослідження надмірного росту бактерій проводилися з системою Coran MSwab® за температури 4-8°C, що відповідає температурі в холодильнику. Зонд-тампони, що входять до кожної транспортної системи, було інокульовано у трьох повторях із 100 мкл суспензії мікроорганізмів з питомими концентраціями. Потім зонд-тампони поклали у відповідні пробірки з транспортним середовищем і тримали протягом 0 годин і 48 годин. Із відповідними часовими інтервалами кожен зонд-тампон обробляли відповідно до методу прокатування по чашці Петрі.

Дослідження надмірного росту бактерій проводилися з використанням штаму *Pseudomonas aeruginosa*.

Дослідження інфективності вірусів проводилися з використанням вірусів HSV 1 і HSV 2. Зонд-тампони, що входять до кожної транспортної системи, було напряму інокульовано у трьох повторях із 100 мкл суспензії вірусів. Потім зонд-тампони поклали у відповідні пробірки з транспортним середовищем і тримали протягом 0 годин, 24 годин і 48 годин за температури 4°C і кімнатної температури (20-25°C). Із відповідним часовим інтервалом кожен зонд-тампон було оброблено вихровою мішалкою, витягнуто з пробірки із транспортним середовищем, а потім 200 мкл аликвотних частин цієї суспензії було інокульовано в одношарові культури клітин. Усі культури було оброблено з використанням стандартного лабораторного методу культивування та вивчено після заданого часу інкубації. Інфективність вірусів було визначено шляхом підрахування флуоресуючих вогниць.

Оцінювалися такі віруси:

Вірус Herpes Simplex Virus типу 1 (HSV 1)	ATCC® VR-539
Вірус Herpes Simplex Virus типу 2 (HSV 2)	ATCC® VR-734.

Згідно зі стандартом Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2, ефективність підтримання життєздатності вимірюється для кожного тестового мікроорганізму у 48-годинний контрольний момент часу та порівнюється з критеріями прийнятності.

Для обох типів дослідження ефективності підтримання життєздатності – прокатування по чашці Петрі та елюювання зразка із зонд-тампона – система Coran MSwab® була здатна підтримувати прийнятний рівень відновлення всіх мікроорганізмів, оцінюваний для обох діапазонів температури – холодильника (4-8°C) і кімнатної температури (20-25°C). Прийнятний рівень відновлення для методу прокатування по чашці Петрі визначений як ≥ 5 колонієутворюючих одиниць із вказаного розведення після зазначеного часу витримки, що дало кількість бактерій у посіві на агар, близьку до 300 колонієутворюючих одиниць, у нульовий момент часу. Прийнятний рівень відновлення для методу елюювання зразка із зонд-тампона визначено як зниження кількості колонієутворюючих одиниць після зазначеного часу витримки не більше ніж на $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) порівняно з кількістю колонієутворюючих одиниць на зонд-тампонах у нульовий момент часу.

Додаткові часові точки тестували для *Staphylococcus aureus*, ATCC® 29213 і ATCC® 6538, а також *Staphylococcus aureus* (метицилінрезистентний) ATCC® 43300 і ATCC® 700698.

У дослідженнях ефективності підтримання життєздатності з прокатуванням по чашці Петрі система Copan MSwab® була здатна підтримувати прийнятний рівень відновлення всіх мікроорганізмів, оцінюваний для обох діапазонів температури – холодильника (4-8°C) протягом 14 днів і кімнатної температури (20-25°C) протягом 72 годин. Прийнятний рівень відновлення для методу прокатування по чашці Петрі визначений як ≥ 5 колонієутворюючих одиниць із вказаного розведення після зазначеного часу витримки, що дало кількість бактерій у поєднанні на агар, близьку до 300 колонієутворюючих одиниць, в нульовий момент часу.

Дослідження ефективності підтримання життєздатності також включає оцінку надмірного росту бактерій за температурних умов холодильника (4-8°C). Для методу елювання зразка із зонд-тампона оцінка надмірного росту мікроорганізмів проводиться для всіх видів бактерій, протестованих у 48-годинній часовій точці витримки. Оцінка надмірного росту мікроорганізмів з використанням методу елювання зразка із зонд-тампона визначається як збільшення кількості колонієутворюючих одиниць від нульового моменту часу до часу витримки більш ніж на $1 \log_{10}$. Для методу прокатування по чашці Петрі оцінка надмірного розвитку мікроорганізмів проводиться з окремим аналізом, у якому на зонд-тампони було нанесено 100 мкл речовини, що містить 102 колонієутворюючих одиниць культури *Pseudomonas aeruginosa*. Оцінка надмірного розвитку мікроорганізмів за таких умов визначається як збільшення у 48-годинній точці витримки кількості колонієутворюючих одиниць більш ніж на $1 \log_{10}$ від кількості колонієутворюючих одиниць у нульовий момент часу.

Система Copan MSwab® продемонструвала відсутність надмірного розвитку мікроорганізмів на основі критеріїв прийнятності, описаних у стандартах Clinical and Laboratory Standards Institute M40-A2.

Система Copan MSwab® була здатна підтримувати інфективність наступних вірусів протягом щонайменше 48 годин за кімнатної температури (20-25°C) та в холодильнику (2-8°C) в описаних вище умовах тестування: вірус Herpes Simplex Virus типу 1, вірус Herpes Simplex Virus типу 2.

Зберігання нуклеїнових кислот

Аналіз зразків, зібраних за допомогою системи MSwab® для аналізу з використанням методів молекулярної ампліфікації нуклеїнових кислот (МАНК), слід провести протягом 14 днів за умов зберігання за кімнатної температури (20-25°C), протягом 21 дня за умов зберігання за температури 4°C і протягом 6 місяців за умов зберігання за температури -20°C.

Тести ефективності системи Copan MSwab® проводилися з використанням суспензій лабораторних штамів, нанесених на зонд-тампон FLOQSwabs®, що відноситься до середовища. Досліджувані штами включали в себе, серед інших: *B. pertussis* ATCC® 8467, *S. aureus* (метицилінрезистентний) ATCC® 43300, *E. coli* O157-H7 ATCC® 700728, *S. tiphimurium* ATCC® 14028, *C. difficile* ATCC® 9689, вірус *Influenza A* ATCC® VR-822, вірус *Influenza B* ATCC® VR 786, *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069 і *C. trachomatis* ATCC® VR880. Тести ефективності з використанням людських клінічних зразків та (або) матриксів людського походження не проводилися.

Отримані результати будуть значною мірою залежати від правильного та відповідного вимогам збору зразка, а також своєчасності транспортування й обробки в лабораторії.

ТАБЛИЦЯ СИМВОЛІВ

Див. таблицю символів у кінці інструкції з використання.

Уповноважений представник:
ФОП Харченко,
вул. С.Чавдар 11/100, м.Київ, 02140
Тел.: +380 67 155 2779,
s.kharchenko@yahoo.com



BIBLIOGRAPHY

1. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th edition. Washington, DC: ASM; 1999.
2. Isenberg HD, Schoenkencht FD, Von Graevenitz A, Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating editor, S. J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1979.
3. Isenberg HD. (Editor in Chief). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1992.
4. Isenberg HD. (Editor in Chief). *Essential Procedures for Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington DC, 1998.
5. Summanen P, Baron EJ, Citron D, Strong C, Wexler HM, Finegold SM. (1993). *Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual*, 5th edn. Star Publishing Company, Belmont, CA.
6. ASM Cumitech publications number 10A, 13A, 17A. American Society for Microbiology, Washington, DC.
7. Miller JM. *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*. Second Edition. American Society for Microbiology. Washington, DC. 1999.
8. Miller JM, Holmes HT. Specimen collection, transport, and storage. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. Washington, DC: ASM; 1995:19-20.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), 2014. *M40-A2 Quality Control of Microbiology Transport Systems; Approved Standard-Second Edition*
10. Sng E-H, Rajan VS, Teo K-L, Goh A-J. The recovery of *Neisseria gonorrhoeae* from clinical specimens: effects of different temperatures, transport times, and media. *Sex Trans Dis*. 1982; 9:74-78.
11. Sun Y, Taylor T, Williams L, Sautter RL. Comparison of bacterial viability using both the EZ brand collection and transport system with the Difco swab transport pack. Presented at: 96th ASM General Meeting. 1996; Washington DC. Abstract C35.
12. Arbique JC, Forward KR, LeBlanc J. Evaluation of four commercial transport media for the survival of *Neisseria gonorrhoeae*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2000; 36:163-168.
13. Perry JL. Effects of temperature on fastidious organism viability during swab transport. 101st General Meeting of the American Society for Microbiology. 2001; Orlando, FL. Abstract C-55.
14. Wilson DA, Tuohy MS, Procop GW, Hall GS. Effects of storage on the recovery of bacteria from three swab transport systems: BD CultureSwab, BD Culturette and Starplex StarSwab II. 101st General Meeting of the American Society for Microbiology. 2001; Orlando, FL. Abstract C-61.
15. Arbique J, Campbell S, MacFarlane M, Davidson RJ. Comparison of methodologies described in NCCLS document M40-P Quality Control of Microbiology Transport Devices. 103rd General Meeting of the American Society for Microbiology. 2003; Washington, DC. Abstract C-40.
16. Mitchell E, Berman M, Ginocchio CC. Evaluation of two new Liquid Stuart transport systems: Platinum StarSwab II (Starplex Scientific) and BBL CultureSwab (Becton Dickinson). 102nd General Meeting of the American Society for Microbiology. 2002; Salt Lake City, UT. Abstract C-74.
17. Perry JL, Matthews JS. Compliance of two popular swab transport systems with performance standards detailed by the new NCCLS Proposed Standard, M40-P. 103rd General Meeting of the American Society for Microbiology. 2003; Washington, DC. Abstract C-42.
18. Robinson A, Gruver ML. Comparison of bacterial survival in two transport systems stored at room temperature and refrigerator temperatures. 102nd General Meeting of the American Society for Microbiology. 2002; Salt Lake City, UT. Abstract C-69.
19. Human RP, Jones GA. Evaluation of 4 transport systems against a published standard. 104th General Meeting of the American Society for Microbiology. 2004; New Orleans, LA. Abstract C-161.
20. Human RP, Jones GA. Evaluation of swab transport systems against a published standard. *J Clin Pathol* 2004; 57:762-763.
21. Arbique J, Campbell S, MacFarlane M, Davidson RJ. Comparison of methodologies for anaerobic organisms described in NCCLS document M40-P, Quality Control of Microbiology Transport Devices. 13th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ECCMID). 2003; Glasgow, UK. Abstract P-652.
22. Marler LM, Siders JA, Allen SD. *Direct Smear Atlas, A Monograph of Gram-Stained Preparations of Clinical Specimens*. Lippincott Williams and Wilkins, 2001.
23. Rotimi VO, Yakubu Z, Abudu OO, Banjo TO. Direct Gram's stain of vaginal discharge as a means of diagnosing bacterial vaginosis. *Journal of Medical Microbiology*, 1991 Vol 35, Issue 2 103-106.
24. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid. *J. Clin Microbiol*. 1983 Jul; 18 (1):170-177.
25. Benavides MI, Moncada X, Rodriguez B, Castillo C. Gonococcal urethritis in men: clinical experience in 1978-1988. *Rev Med Chil*. 1992 Oct; 120(10):1140-3.
26. Mayaud P, Msuya W, Todd J, Kaatano G, West B, Begkoyian G, Grosskurth H, Mabey D. Rapid assessment in Rwandan refugee camps in Tanzania. *Genitourin Med*, 1997 Feb; 73 (1):33-8
27. Lynne S. *Garcia Clinical Microbiology Procedures Handbook, Third Edition 2010* ASM Press 3.2.1
28. AE Greenberg, LS Clesceri, and AD Eaton. 9215 heterotrophic plate count. In: *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water*. 18th ed. Washington, DC APHA; 1992: 9-33-9-34
29. Henry D. *Isenberg Essential procedures for Clinical Microbiology 1998* ASM PRESS 477-478
30. Steven Specter, Richard L. Hodinka, Stephen A. Young *Clinical Virology Manual Third edition*, 384-409
31. Fleming D. *Biological Safety: Principles and Practices*. January 2000. ASM, Washington DC.
32. Richard J. The 1, 2, 3's of Biosafety Levels. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA. <http://www.cdc.gov/od/ohs/symp5/jrtext.htm>.
33. Richardson JH. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. December 1994. Diane Publishing Company.
34. Hansen DJ. *Healthcare, Laboratories and Biosafety*. Vol 2., 1992. CRC Press.
35. *A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)*.

INDEX OF SYMBOLS

Symbol / Simbolo / Símbolo / Symbol / Symbole / Símbolos / Símbol / Символ	Meaning / Significato / Signification / Bedeutung / Sens / Significado / Značenje / Значення
	Manufacturer / Fabricante / Fabricante / Hersteller / Fabricant / Fabricante / Proizvođač / Виробник
	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 / Dijagnostički uređaj u erpuveti / Медичний виріб для діагностики in vitro
	CE marking / Marchio CE / Marca CE / CE-Kennzeichnung / Marquage CE/ Marcação CE / Oznaka CE / Маркування CE
	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 / Identifikasjon for godkjenningsorganet / Ідентифікаційний номер уповноваженого органу
	Sterilized using ethylene oxide / Sterilizzato usando ossido di etilene / Esterilizado por óxido de etileno / Sterilisiert mit Äthylenoxid / Stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène / Esterilizado utilizando óxido de etileno / Sterilizovano korišćenjem etilen oksida / Стерилізований завдяки етиленоксиду
	Do not reuse / Non riutilizzare / No reutilizar / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Não voltar a utilizar / Nemojte ponovo koristiti / Не використовувати повторно
	Catalogue number / Numero di catalogo / Número de catálogo / Bestellnummer / Référence du catalogue / Número do catálogo / Kataloški broj / Номер за каталогом
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Límites de temperatura / Temperature Begrenzung / Limites de temperature / Limites de temperatura / Opseg temperature / Температурні обмеження
	Use by / Utilizzare entro / Fecha de caducidad / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Prazo de validade / Upotrebiti do / Використати до
	Peel / Strappare per aprire / Desprender / Abziehen / Décoller / Destacar / Ogulite / Відкривати тут
	Batch code (Lot) / Codice del lotto (partita) / Código de lote (Lote) / Chargencode (Chagenbezeichnung) / Code de lot (Lot) / Código do lote (Lote) / Serijski (lot) broj / Код серії (партії)
	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 / Sadržaj dovoljan za testova / Придатий для проведення <n> кількості випробувань
	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 / Nemojte koristiti ako je ambalaža oštećena / Не використовувати, якщо упаковка пошкоджена
	This only applies to US: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Vale solo per gli Stati Uniti: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Sólo se aplica a los EE.UU.: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Gilt nur für die USA: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / S'applique uniquement aux États-Unis: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Isto aplica-se apenas aos EUA: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Ovo se odnosi samo na SAD: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / "Це стосується винятково США: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner."
	Date of Manufacture / Data di fabbricazione/ Fecha de fabricación / Herstellungsdatum/ Date de fabrication / Data de fabrico / Datum proizvodnje / Дата виробництва



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 / Pogledajte uputstva za upotrebu koja ste dobili uz uređaj ili su dostupna u elektronskom formatu a koja se mogu prepoznati pomoću indikatora e-IFU na nalepnici na pakovanju / Див. друковані інструкції з використання або інструкції з використання в електронному форматі, якщо наявна позначка "eIFU Indicator"

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