

PRODUCT INSERT & HOW TO USE SWAB GUIDE

See symbol glossary at end of insert./ Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice./ Siehe Symbol-Erklärungen am Ende der Packungsbeilage./ Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto./ Vedere il glossario dei simboli alla fine del foglio istruzioni./ Consulte o glossário de símbolos no fim do folheto informativo.



(GB) Product Insert & How to Use Guide**INTENDED USE**

Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) Collection and Transport System is intended for the collection and transport of clinical specimens containing aerobes, anaerobes, fastidious bacteria, viruses and Chlamydia.

In the laboratory, ESwab specimens can be processed, using standard clinical laboratory operating procedures, for:

- bacterial culture of anaerobes, aerobes and fastidious organisms
- antigens and nucleic acids detection of bacteria, viruses and Chlamydia

SUMMARY AND PRINCIPLES

One of the routine procedures in the diagnosis of bacteriological infections involves the collection and safe transportation of swab samples. This can be accomplished using the Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) Collection and Transport System. Copan ESwab incorporates a modified Liquid Amies transporting medium, which can sustain the viability of a plurality of organisms that include clinically important aerobes, anaerobes and fastidious bacteria such as *Neisseria gonorrhoeae*. ESwab transport medium, being free of enzymes and inhibitors that may interfere with molecular amplifications assays, is also suitable for stabilization of bacterial, viral and Chlamydia antigens and nucleic acids during transit to the testing laboratory. The ESwab transport medium is a maintenance medium comprising inorganic phosphate buffer, calcium and magnesium salts, and sodium chloride with a reduced environment due to the presence of sodium thioglycollate (1).

Copan ESwab consists of a sterile package containing two components: a pre-labeled polypropylene screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml of Liquid Amies transport medium and a specimen collection swab which has a tip flocked with soft nylon fiber. Three types of applicator shafts are available: regular size flocked nylon applicator intended for the collection of samples from nose, throat, vagina, rectum, faeces or wounds; minitip size flocked nylon applicator intended for the collection of samples from small or less accessible areas such as the eye, ear, nasal passages, throat and urogenital tract; perinasal nylon flocked applicator intended for the collection of samples from the nasopharynx and pediatric sample collection.

In order to improve the sample collection efficiency and minimize patient's discomfort, two specific applicators have been additionally designed: the former for urethral sample collection and the latter for pediatric sample collection. For more details please refer to table 1.

Once a swab sample is collected, it should be placed immediately into the ESwab transport tube where it comes into contact with the transport medium.

Swab specimens for bacterial culture, collected using ESwab, should be transported directly to the laboratory, preferably within 2 hours of collection (2, 3, and 4) to maintain optimum organism viability. 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 except for *Neisseria gonorrhoeae* cultures which should be processed within 24 hours. Independent scientific studies on swab transport systems have shown that for certain bacteria viability is superior at refrigerated temperatures compared with room temperature (12 – 16).

Swab specimens for bacterial, viral and chlamydial antigens and nucleic acids investigations should be processed before five days when stored at room temperature (20 – 25°C); within 7 days if stored at 4°C and within 6 months when stored at -20°C.

When the sample is processed both for bacterial culture and antigens/nucleic acids investigations, the appropriate time and temperature conditions during transport and storage must be considered, as above indicated.

REAGENTS

Copan ESwab incorporates a modified Liquid Amies medium.

ESwab MEDIUM FORMULATION

Sodium chloride
Potassium chloride
Calcium chloride
Magnesium chloride
Monopotassium phosphate
Disodium phosphate
Sodium thioglycollate
Distilled water

TECHNICAL NOTE

The modified Liquid Amies Medium in ESwab transport tubes can have a cloudy appearance. This is normal and is due to the presence of salts in the medium formulation.

PRECAUTIONS

- Observe approved biohazard precautions and aseptic techniques. To be used only by adequately trained and qualified personnel.
- All specimens and materials used to process them should be considered potentially infectious and handled in a manner which prevents infection of laboratory personnel. Sterilize all biohazard waste including specimens, containers and media after their use. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (34, 35, 36, and 37).
- Directions should be read and followed carefully.

STORAGE

This product is ready for use and no further preparation is necessary. The product should be stored in its original container at 5 – 25°C until used. Do not overheat. Do not incubate or freeze prior to use. Improper storage will result in a loss of efficacy. Do not use after expiration date, which is clearly printed on the outer box and on each individual sterile collection pouch and the specimen transport tube label.

PRODUCT DETERIORATION

Copan ESwab should not be used if (1) there is evidence of damage or contamination to the product, (2) there is evidence of leakage, (3) the expiration date has passed, (4) the swab package is open, or (5) there are other signs of deterioration.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE AND TRANSPORTATION

Specimens collected for bacteriological investigations which comprise the isolation of aerobes, anaerobes and fastidious bacteria such as *Neisseria gonorrhoeae* should be collected and handled following published manuals and guidelines (2, 3, 18, 19, 20, 21, 22, and 23).

To maintain optimum organism viability, antigen and nucleic acids integrity, transport specimens collected using ESwab directly to the laboratory, preferably within 2 hours of collection (2, 3, and 4). 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 except for *Neisseria gonorrhoeae* cultures which should be processed within 24 hours.

Swab specimens for bacterial, viral and chlamydial antigens and nucleic acids investigations should be processed before five days when stored at room temperature (20 – 25°C); within 7 days if stored at 4°C and within 6 months when stored at -20°C.

When the sample is processed both for bacterial culture and antigens/nucleic acids investigations, the appropriate time and temperature conditions during transport and storage must be considered, as above indicated.

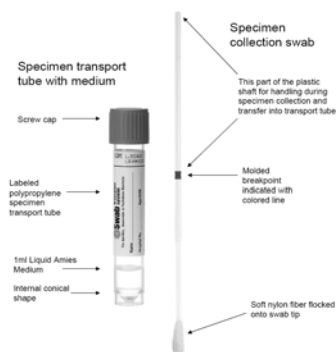
Specific requirements for the shipment and handling of specimens should be in full compliance with state and federal regulations (19, 22, and 23). Shipping of specimens within medical institutions should comply with internal guidelines of the institution. All specimens should be processed as soon as they are received in the laboratory.

MATERIALS SUPPLIED

Fifty (50) units are contained in a shelf pack and 10 x 50 units are contained in a box. Each unit consists of a sterile package containing two components: a pre-labeled polypropylene screw-cap tube with conical shaped bottom filled with 1 ml of Liquid Amies transport medium and a specimen collection swab which has a tip floxed with soft nylon fiber (see Fig 1). Three main types of collection applicators are available; including a tube of medium but each has a different type of swab applicator. One unit type contains a regular size floxed nylon swab applicator intended for the collection of samples from the nose, throat, vagina, rectum, faeces or wounds, the second unit type contains a minitip size floxed nylon swab applicator intended for the collection of samples from small or less accessible areas such as the eye, ear, nasal passages, throat, urogenital tract and the third type containing a pernasal floxed nylon swab applicator intended for the collection of samples from the nasopharynx, and neonatal applications. These different types of swab applicators facilitate the collection of specimens from different sites on a patient. Refer to the individual product descriptions for specific information about materials supplied.

All collection swab applicators provided with ESwab have a molded breakpoint in the shaft of the applicator which is highlighted with a colored indication line marked on the shaft of the applicator. After the sample is collected from the patient, the molded breakpoint facilitates easy breakage of the swab applicator into the ESwab tube of transport medium. ESwab tube caps have an internal molded design that is able to capture the swab shaft when it is broken off into the tube and the cap is closed. The action of screwing the cap onto the tube moves the end of the broken swab shaft into a funnel shaped molded docking receptacle in the cap. This molded funnel shape effectively captures the end of the broken applicator shaft and secures it firmly in the dock by friction grip. In the testing laboratory when the swab cap is unscrewed and removed, the swab applicator is attached to the cap. This feature allows the operator to conveniently remove the swab from the transport tube and perform various microbiology analyses using the tube cap as a handle to hold the swab applicator. Due to the flexibility of the shaft of minitip, pernasal, urethral and pediatric swabs (481CE, 482CE, 483CE and 484CE), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap.

Fig 1 ESwab Components



MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Appropriate materials for isolating and culturing aerobes, anaerobes and fastidious bacteria. Appropriate materials for bacterial, viral and Chlamydia rapid antigens and nucleic acids extractions and amplifications. These materials include culture media plates or tubes and incubation systems, gas jars or anaerobic workstations, or extraction system for molecular assays. Refer to laboratory reference manuals for recommended protocols for culture and identification techniques for aerobes, anaerobes and fastidious bacteria, bacterial, viral and Chlamydia rapid antigens and nucleic acid detections and amplifications from clinical swab samples. (17, 18, 21, 22, 43).

DIRECTIONS FOR USE

Copan ESwab Collection and Transport System is available in product configurations indicated in the table below.

Table 1

Catalog No.	Copan ESwab Product Descriptions	Pack Size	Sampling Sites [¥]	Capture Cap Feature
480CE 490CE.A	Sterile single use sample collection pack containing: - Pink Polypropylene screw-cap tube with internal conical shape filled with 1ml of Liquid Amies Medium. - One regular size applicator swab with floxed nylon fiber tip.	50 units per shelf pack 10x50 units per box	Nose, throat, vagina, rectum, faeces and wounds	YES
481CE 491CE.A	Sterile single use sample collection pack containing: - Orange Polypropylene screw-cap tube with internal conical shape filled with 1ml of Liquid Amies Medium. - One minitip applicator swab with floxed nylon fiber tip.	50 units per shelf pack 10x50 units per box	Eye, ear, nasal passages, throat, urogenital tracts.	NO
482CE	Sterile single use sample collection pack containing: - Blue Polypropylene screw-cap tube with internal conical shape filled with 1ml of Liquid Amies Medium. - One pernasal applicator swab with floxed nylon fiber tip.	50 units per shelf pack 10x50 units per box	Nasopharynx and pediatric sample collection.	NO
483CE	Sterile single use sample collection pack containing: - Orange Polypropylene screw-cap tube with internal conical shape filled with 1ml of Liquid Amies Medium. - One urethral applicator swab with floxed nylon fiber tip.	50 units per shelf pack 10x50 units per box	Urogenital tract.	NO
484CE	Sterile single use sample collection pack containing: - Blue Polypropylene screw-cap tube with internal conical shape filled with 1ml of Liquid Amies Medium. - One pediatric applicator swab with floxed nylon fiber tip.	50 units per shelf pack 10x50 units per box	Pediatric sample collection.	NO
493CE02	ESwab MRSA collection system. Sterile single use sample collection pack containing: - Pink Polypropylene screw-cap tube with internal conical shape filled with 1ml of Liquid Amies Medium. - one pink regular size flock swab plus one white regular size floxed swab	50 units per shelf pack 10x50 units per box	Nose, throat, perineum	YES
493CE03	ESwab MRSA collection system. Sterile single use sample collection pack containing: - Pink Polypropylene screw-cap tube with internal conical shape filled with 1ml of Liquid Amies Medium. - two pink regular size flock swabs plus one white regular size floxed swab	50 units per shelf pack 10x50 units per box	Nose, throat, perineum	YES

Other product codes may be available. For updates please refer to our website: www.copaninnovation.com

[¥] Performance testing with Copan ESwab was conducted using laboratory strains spiked onto a swab following the test protocols described in Clinical Laboratory Standards Institute M40-A Approved Standard (4). Performance testing was not conducted using human specimens.

Specimen Collection

Proper specimen collection from the patient is extremely critical for successful isolation and identification of infectious organisms. For specific guidance regarding specimen collection procedures, consult published reference manuals (2, 17, 18, 20, 21, 22).

For Eswab codes from 480 to 484:

1. Open the ESwab sample collection pouch and remove the tube and swab.
2. Collect the sample from the patient.
3. Aseptically unscrew and remove the cap from the tube.
4. Insert the swab into the tube and break the swab shaft at the breakpoint indicated by the colored line marked on the swab shaft. Discard the broken handle part of the swab shaft into an approved medical waste disposal container.
5. Replace cap on the tube and secure tightly.
6. Write patient information on the tube label or apply patient identification label. Send the sample to the test laboratory

For Eswab MRSA collection system codes 493:

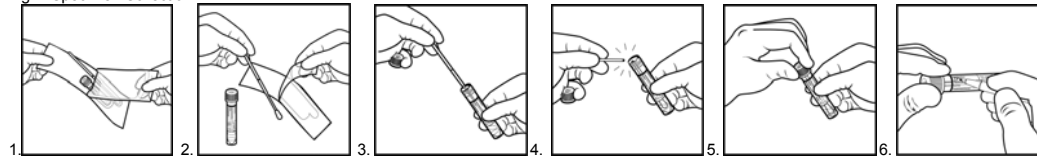
1. Open the peel pouch
2. **Use pink swab to collect first specimen** (i.e: throat, perineum, nose or any other collection site) and then unscrew the tube.
3. Insert the swab into the Liquid Amies medium all the way to reach the bottom of the tube. **Dip and gently stir the swab for 5 seconds.**
4. **Lift up** the swab from the liquid medium and swirl the swab against the tube walls 5 times to allow release of the sample from the flocked fibre. Remove the swab and recap.
5. Discard pink swab in the Biohazard container.
6. **Use white swab to collect the last specimen** (i.e: throat, perineum, nose or any other collection site) and then break the swab at the molded breaking point.
7. **Place the swab into the tube.**
8. **Recap the tube with the white swab inside**, write patient name and send tube to the laboratory.

Repeat all previous steps (2 to 5) if your ESWAB MRSA SYSTEM is composed of one more pink swab

and use it to collect the second specimen (i.e: throat, perineum, nose or another collection site).

If not, proceed to step 7.

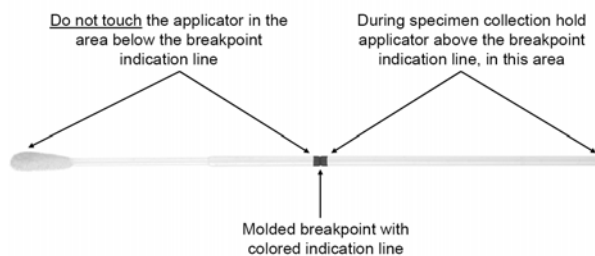
Fig. 2 Specimen Collection



Sterile gloves and protective clothing and eyewear should be worn when collecting and handling microbiology specimens and care should be taken to avoid splashes and aerosols when breaking the swab stick into the tube of medium.

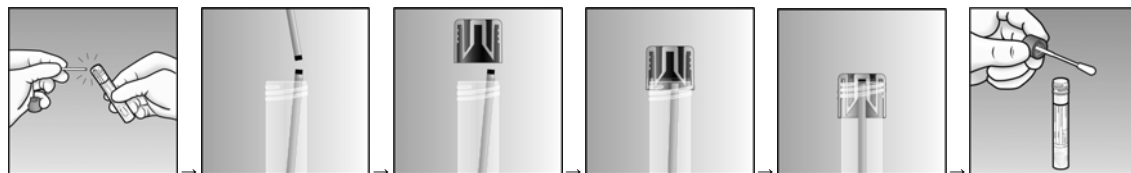
During sample collection when handling the swab applicator, the operator must not touch the area below the colored breakpoint indication line; that is the area from the line to the tip of the nylon flocked swab (see Fig 3), as this will lead to contamination of the applicator shaft and the culture thus invalidating the test results.

Fig 3. Collection swab showing breakpoint indication line and area for holding the applicator



The operator must only handle the part of the swab applicator shaft above the breakpoint indication line as shown in Fig 3. After the swab sample is taken from the patient, the swab applicator shaft is broken off at the colored breakpoint indication line into the ESwab tube of transport medium. The operator then discards the handle part of the swab into an approved medical waste disposal container. The tube's screw cap is then replaced and secured tightly.

Fig 4. Capture of broken swab applicator stick by ESwab tube cap



In the testing laboratory when the ESwab cap is unscrewed and removed, the swab applicator stick is securely attached to the cap. This feature allows the operator to conveniently remove the swab and perform various microbiology analyses using the tube cap as a handle to hold and manipulate the swab.

Due to the flexibility of the shaft of minitip, perinasal urethral and pediatric swabs (481CE, 482CE, 483CE and 484CE), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap

Plating ESwab Specimen Cultures in the Laboratory

ESwab 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 (17, 18, 21, 24, 25).

Culture investigations of swab specimens for the presence of aerobic bacteria, anaerobic bacteria and fastidious bacteria such as *Neisseria gonorrhoeae* routinely involve the use of solid agar culture medium in Petri dish plates. The procedure for inoculation of ESwab samples onto solid agar in Petri dishes is as follows.

Note: Wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (34, 35, 36, 37).

1. Vigorously shake the ESwab tube containing the swab sample between the thumb and forefinger for 5 seconds or mix the tube using a vortex mixer for 5 seconds to release the sample from the swab tip and evenly disperse and suspend the patient specimen in the liquid transport medium.
2. When the sample is processed with molecular assays, before plating the swab for culture, transfer an aliquot of the sample in a sterile tube.
3. Unscrew the ESwab cap and remove the swab applicator.
4. Roll the tip of the ESwab applicator onto the surface of one quadrant of the culture media plate to provide the primary inoculum.
5. If it is necessary to culture the swab specimen onto a second culture media plate, return the ESwab 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.
6. If it is necessary to inoculate additional culture media plates, return the ESwab 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 ESwab 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 5). Alternatively, the operator can vortex mix the ESwab tube with the swab inside for 5 seconds and then transfer 100µl volumes of the suspension onto each culture plate using a volumetric pipetor 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 6).

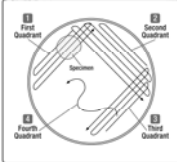
Due to the flexibility of the shaft of minitip, pernasal, urethral and pediatric swabs (481CE, 482CE, 483CE and 484CE), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap and it shall not be used like an inoculation wand. The operator can vortex mix the ESwab tube with the swab inside for 5 seconds and then transfer 100µl volumes of the suspension onto each culture plate using a volumetric pipetor and sterile pipet tips.

Fig 5. Procedures for inoculation of ESwab specimens onto solid agar in Petri dishes



1. Using swab to inoculate specimen
2. Using pipetor and sterile pipet tips to inoculate 100µl of specimen

Fig 6. Procedure for streaking ESwab specimens on agar Petri dishes for primary isolation (33)



Seed a primary inoculum of ESwab 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.

Processing ESwab with automated systems

Some ESwab product references may be processed with automated systems. Please refer to automation manufacturer's instructions for ESwab processing. Due to the flexibility of the shaft of minitip, pernasal, urethral and pediatric swabs (481CE, 482CE, 483CE and 484CE), use tweezers to extract the applicator from the tube before loading it into the machine, as it may interfere with the automation.

Preparation of Gram Stain Smears of ESwab 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 (26). There are many instances in which a Gram stain can assist in making a diagnosis; for example, with swabs taken from the endocervix or male urethra to investigate suspected *Neisseria gonorrhoeae* infections or vaginal swabs to diagnose bacterial vaginosis (27, 28, 29, 30, 31, 39). The Gram stain can also help to judge specimen quality and contribute to the selection of culture media especially with mixed flora (32).

Microscope slides of patient specimens transported in Copan ESwab transport system can be prepared for Gram stain analysis, as describe below, by sampling an aliquot of vortexed suspension of the swab (21, 32). Sample transported in Eswab elution medium represent an homogeneous suspension in liquid phase. It can be uniformly smeared allowing clear and easy reading.

Note: Wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (34, 35, 36, 37).

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 ESwab 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 Liquid Amies transport medium.
3. Unscrew the ESwab cap and using a sterile pipet, transfer 1 – 2 drops of Liquid Amies sample suspension to the inscribed area on the glass slide. Note: about 30µl would be a suitable amount of liquid for the a pre-marked 20 mm 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 (21, 26, 32).
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 (20, 24, 25, 26, 32).

Processing ESwab specimens for molecular testing 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: Wear gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (34, 35, 36, and 37).

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. (42)

1. Mix ESwab tube with a vortex mixer for 10 seconds, unscrew the cap and using it as a handle, spin the cap in between the thumb and index finger to drain most of the fluid from the tip.
Due to the flexibility of the shaft of minitip, pernasal, urethral and pediatric swabs (481CE, 482CE, 483CE and 484CE), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap. In this case, use tweezers to extract the applicator from the tube after spinning the swab tip to extract most of the fluid from the tip.
2. Discard the swab, and transfer the appropriate amount of sample to an extraction tube as per laboratory SOP.
3. The ESwab has been validated with the following extraction methods: Silica-gel membrane, Magnetic beads, Organic Extraction Method, Thermal extraction. Other extraction methods may be also applicable prior validation.
4. Store E-Swab specimen at -20°C when unable to extract.
5. The ESwab has been validated with amplification methods.

Processing ESwab specimens for rapid antigen testing in the laboratory.

1. Mix ESwab tube with a vortex mixer for 10 seconds.
2. Use the sample fluid or the swab and test according to testing specifications provided with the kit and laboratory SOP.
Due to the flexibility of the shaft of minitip, pernasal, urethral and pediatric swabs (481CE, 482CE, 483CE and 484CE), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap. Use tweezers to extract the applicator from the tube.

QUALITY CONTROL

All lot numbers of the ESwab are tested for sterility, nuclease and inhibitors and all lot numbers of swab applicators are tested to ensure they are non-toxic to bacteria. ESwab Liquid Amies transport medium is tested for pH stability and bio-burden using Gram stain microscopic examination to ensure acceptable levels as defined in Clinical Laboratory Standards Institute M40-A (4). Each production lot of ESwab is quality control tested before release for ability to maintain viable bacteria at both refrigerated temperatures (4 – 8°C) and room temperature (20 – 25°C) for specified time points with a panel of aerobes, anaerobes and fastidious bacteria using both Roll-Plate and Swab Elution Methods (4). Viability performance studies also include an assessment of bacterial overgrowth at refrigerated temperatures (4 – 8°C) which should correspond to ≤ 1 log increase in growth at a specified time point. Each production lot of ESwab is analyzed for enzymatic and inhibitory activity, which may prevent nucleic acids amplification. DNase and RNase are enzymes that degrade nucleic acids thus preventing suitable nucleic acid amplification. The presence of DNase or RNase in the transport and storage medium may result in false negative results. Testing consists in adding a known amount of DNA or RNA (Kb ladder) to the ESwab medium and evaluating the level of DNA and RNA integrity.

Procedures for quality control of bacteriology transport devices using a quantitative Swab Elution Method and qualitative Roll-Plate Method are described in Clinical Laboratory Standards Institute M40-A and other publications (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

LIMITATIONS

1. In the laboratory, wear latex gloves and other protection commensurate with universal precautions when handling clinical specimens. Observe other CDC Biosafety Level 2 recommendations (34, 35, 36, 37) when handling or analyzing patient samples.
2. The use of ESwab for the collection of samples from the urogenital tract of pregnant women has not been evaluated.
3. Condition, timing, and volume of specimen collected for culture are significant variables in obtaining reliable culture results. Follow recommended guidelines for specimen collection (2, 3, 17, 18, 20, 21, 24).
4. ESwab is intended for use as a collection and transport medium for aerobes, anaerobes and fastidious bacteria such as *Neisseria gonorrhoeae*, bacterial, viral and chlamydial rapid antigens and nucleic acids detection. The product is not intended to maintain the viability of virus and Chlamydia.
5. ESwab Collection and Transport System is intended to be used with the medium tubes and swabs provided in the pouch. The use of tubes of medium or swabs from any other source are not qualified for use with ESwab and could affect the performance of the product and laboratory test results.
6. ESwab has been validated with the main extraction methods: Silica-gel membrane, Magnetic beads, Organic Extraction Method, Thermal extraction. Other extraction methods can be performed prior validation.
7. After DNA extraction, an aliquot of ESwab medium can be amplified with no purification phase. In this case we suggest a dilution of ESwab medium in 1:5.

WARNINGS

-  This product is for single use only; reuse may cause a risk of infection and/or inaccurate results.
- Do not re-sterilize unused swabs.
- Do not re-pack.
- Not suitable to collect and transport microorganisms other than aerobes, anaerobes and fastidious bacteria.
- Not suitable for any other application than intended use.
- The use of this product in association with a rapid diagnostic kit or with diagnostic instrumentation should be previously validated by the user.
- Do not use if the swab is visibly damaged (i.e., if the swab tip or swab shaft is broken).
- Do not use excessive force or pressure when collecting swab samples from patients as this may result in breakage of the swab shaft.
- Applicator swab is qualified as Class IIa Medical Device according to European Medical Device Directive 93/42/EEC - Surgically Invasive Transient Use. Class IIa means swabs can be used for sampling body surfaces, body orifices (e.g., nose, throat and vagina and deep invasive surgical wounds).
- Do not ingest the medium.
- Directions for use must be followed carefully. The manufacturer cannot be held responsible for any unauthorized or unqualified use of the product.
- Due to the flexibility of the shaft of minitip, pernasal, urethral and pediatric swabs (481CE, 482CE, 483CE and 484CE), the capture cap feature is not applicable, as the broken applicator may not firmly fit into the cap
- To be handled by trained personnel only.
- It must be assumed that all specimens contain infectious micro-organisms; therefore all specimens must be handled with appropriate precautions. After use, tubes and swabs must be disposed of according to laboratory regulations for infectious waste. Observe CDC Biosafety Level 2 recommendations (34, 35, 36, 37).
- Do not use the ESwab medium for pre-moistening or pre-wetting the applicator swab prior to collecting the sample or for rinsing or irrigating the sampling sites.

RESULTS

Results obtained will largely depend on proper and adequate specimen collection, as well as timely transport and processing in the laboratory.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

In the routine clinical laboratory, the Roll-Plate Method is the primary means of inoculating swab transport devices onto plated media. A limitation of the Roll-Plate Method (4) for bacterial viability performance testing is that it is not a quantitative method; it is, at best, a semi-quantitative approximation. On the other hand, quantitative viability performance methods such as the Swab Elution Method (4) do not reflect the standard protocol used in most clinical laboratories. Whereas the Swab Elution Method allows a quantitative measurement of the ability of a transport system to maintain viable organisms, the Roll-Plate technique takes into consideration some mechanical variables of the direct swabbing action that exist in the clinical laboratory, and which can influence the release of the sample onto culture plates. Because of this, both methods of performing viability studies were used to determine the performance characteristics of the Copan ESwab Collection and Transport System.

The test procedures employed for determining bacterial viability performance were based upon the quality control methods described in Clinical Laboratory Standards Institute M40-A (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). The test organisms utilized in this study were those specifically prescribed in M40-A for establishing performance claims and quality control of swab transport systems and include a representative panel of aerobes, anaerobes and fastidious bacteria. An additional group of organisms not required or specified by M40-A were tested in order to provide further information on the survival of specific bacteria. Bacterial viability studies were performed on the Copan ESwab 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.

ESwab Collection and Transport System is able to preserve DNA, RNA and antigens of bacteria, viruses and Chlamydia for five days when stored at room temperature (20 – 25°C); 7 days if stored at 4°C and up to 6 months when stored at -20° C.
ESwab is free of contamination of DNase and RNase.. DNase and RNase are enzymes that interfere with the amplification process..

Organisms evaluated were divided into three main groups (see note below):

1. Aerobes and Facultative Anaerobes:

Pseudomonas aeruginosa ATCC® BAA-427, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 6305, *Haemophilus influenzae* ATCC® 10211.

2. Anaerobes:

Bacteroides fragilis ATCC® 25285, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC® 25586, *Propionibacterium acnes* ATCC® 6919, *Prevotella melaninogenica* ATCC® 25845.

3. Fastidious Bacteria:

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 43069.

Additional organisms evaluated:

Enterococcus faecalis (Vancomycin resistant Enterococcus VRE) ATCC® 51299, *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA) ATCC® 43300, *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus) ATCC® 13813, *Clostridium perfringens* ATCC® 13124, *Clostridium sporogenes* ATCC® 3584, *Fusobacterium necrophorum* ATCC® 25286, *Peptococcus magnus* ATCC® 29328.

NOTE

For product performance claims and viability performance testing, bacteria are categorized into three groups as described in Clinical Laboratory Standards Institute M40-A (4) according to their growth responses to atmospheric oxygen:

1. Aerobes and Facultative Anaerobes

Aerobic bacteria require air or free oxygen to live. Facultative anaerobes are bacteria that can survive in either the presence or absence of oxygen. Many aerobic bacteria are facultative anaerobes meaning they are able to grow and survive in the absence of oxygen. For this reason, the aerobic group includes the description facultative anaerobes

2. Anaerobes

Anaerobic bacteria do not require air or free oxygen to live. This category includes obligate anaerobes that can only live in the absence of oxygen.

3. Fastidious Bacteria.

Fastidious bacteria have complicated or exacting growth requirements and this group is represented by the bacterium *Neisseria gonorrhoeae*.

In accordance with Clinical Laboratory Standards Institute M40-A, with the exception of *Neisseria gonorrhoeae*, viability performance is measured for each test organism at the 48 hrs time point and compared with the acceptance criteria. Viability performance is measured for *Neisseria gonorrhoeae* at the 24 hrs time point. In both the Roll-Plate and Swab Elution viability performance studies, Copan ESwab 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 $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) decline in CFU between the zero-time CFU count and the CFU of the swabs after the specified holding time.

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 except for *Neisseria gonorrhoeae* which is assessed at the 24 hrs holding time point. Overgrowth assessment using the Swab Elution Method is defined as greater than $1 \log_{10}$ 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 10^2 CFU of *Pseudomonas aeruginosa* culture. Overgrowth under these conditions is defined as greater than $1 \log_{10}$ increase in CFU between zero-time CFU and the 48 hrs holding time point. Copan ESwab Collection and Transport System demonstrated no overgrowth in either the Swab Elution or Roll-Plate Methods based on the acceptance criteria described in Clinical Laboratory Standards Institute M40-A.

FRANÇAIS

Système de Prélèvement et de Transport Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab)

(F) UTILISATION

Le système de prélèvement et de transport liquide Amies Elution Swab (ESwab) de Copan est destiné au prélèvement et au transport des échantillons cliniques contenant des bactéries aérobies, anaérobies et des germes exigeants, des virus et des Chlamydia.

Les échantillons ESwab sont utilisables pour les procédures standardisées de :

- culture des germes anaérobies, aérobies et difficiles.
- détection d'antigènes et d'acides nucléiques des bactéries, des virus et des Chlamydia.

PRINCIPE

Le prélèvement et le transport sécurisé des échantillons sur écouvillon c'est une des procédures de routine dans le diagnostic des infections bactériologiques et peut être exécuté avec le système Copan Liquid Amies Swab (ESwab). Le dispositif de prélèvement et de transport en milieu de Amies liquide de Copan appelé Elution Swab (ESwab) est composé du milieu de transport d'Amies permettant la viabilité d'un grand nombre de germes importants sur le plan clinique comme les bactéries aérobies, anaérobies, difficiles comme *Neisseria gonorrhoeae*. Le milieu de transport ESwab exempt d'enzymes et d'inhibiteurs pouvant interférer sur les tests d'amplifications moléculaires est aussi utilisé pour la stabilisation des bactéries, des virus, des Chlamydia, des antigènes et des acides nucléiques au cours du transfert vers le laboratoire. Le milieu de transport ESwab est un milieu de maintien composé d'un tampon phosphate inorganique, de sels de calcium et de magnésium et de chlorure de sodium en présence d'un milieu réducteur à base de thioglycolate de sodium (1).

ESwab est un dispositif stérile de prélèvement comprenant un tube conique bouché vis contenant le milieu de transport liquide d'Amies et un écouvillon floqué avec des fibres de nylon pour le prélèvement de l'échantillon. Il existe trois types d'écouvillon: écouvillon en nylon floqué de taille normale pour les prélèvements de nez, de gorge, du vagin, du rectum, de selles et de plaies ; un deuxième écouvillon avec petit embout floqué pour les prélèvements de nez, les zones difficiles d'accès comme les yeux, les oreilles et le nez, la gorge et le tractus urogénital; un troisième écouvillon nasal floqué en nylon pour les échantillons nasaux pharyngés et pédiatriques. Ces deux derniers dispositifs de prélèvement et de transport ont été mis au point afin de diminuer le mauvais confort du patient et augmenter l'efficacité du prélèvement: l'un pour les prélèvements urétraux et l'autre pour les prélèvements pédiatriques (voir la table 1 pour plus d'information).

Après le prélèvement, l'écouvillon doit être immédiatement immergé dans le tube de milieu de transport ESwab. Les écouvillons Eswab pour la culture bactérienne doivent être renvoyés au laboratoire dans les deux heures suivant le prélèvement (2, 3 et 4) pour une viabilité optimale des germes. En cas de livraison ou de prise en charge retardées, les échantillons doivent être stockés à 4-8°C ou à température ambiante pendant 48 heures sauf pour la recherche de la *Neisseria gonorrhoeae* qui doit être effectuée dans les 24 heures. Des études indépendantes des systèmes de prélèvement et transport sur écouvillon ont montré que la viabilité de certaines bactéries est supérieure à températures basses par rapport à la température ambiante (12 à 16).

Les prélèvements sur écouvillon pour la recherche de antigènes et acides nucléiques bactériens, viraux et de Chlamydia doivent être testés au plus tard au bout de 5 jours lors d'un stockage à température ambiante (20-25°C), sept jours à 4°C et 6 mois à -20°C.

Si l'échantillon est utilisé à la fois pour la culture bactérienne et pour la recherche d'antigènes et d'acides nucléiques, les conditions de température et de durée lors du transport et du stockage doivent être considérées comme indiqué ci- dessus.

REACTIFS

Le dispositif ESwab de Copan contient le milieu de transport liquide d'Amies. Voir le texte anglais.

REMARQUE TECHNIQUE

Le milieu de Amies modifié contenu dans les tubes de transport ESwab peut paraître trouble à cause de la présence de sels dans la formule du milieu mais cela est normal.

PRECAUTIONS

- Observer les précautions relatives aux produits dangereux et les techniques aseptiques. Le dispositif doit être utilisé uniquement par du personnel formé et qualifié.
- Tous les échantillons et les matériels doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés de manière à éviter toute infection du personnel de laboratoire. Stériliser tous les déchets dangereux dont les échantillons, les récipients et les milieux après utilisation. Observer les recommandations de sécurité biologique de niveau 2 du CDC (34, 35, 36et 37).
- Suivre attentivement les instructions de la notice d'utilisation.

CONSERVATION

Le produit prêt à l'emploi ne nécessite aucune préparation. Stocker à 5-25°C dans son emballage d'origine jusqu'à la date de péremption. Ne pas surchauffer. Ne pas incuber ou congeler avant utilisation. Un mauvais stockage peut engendrer une perte d'efficacité du test. Ne pas utiliser au delà de la date de péremption imprimée sur l'étiquette principale du dispositif et sur l'étiquette de l'étui de transport.

DEGRADATION

ESwab ne doit pas être utilisé en cas (1) de dégradation ou de contamination, (2) de fuite, (3) de date de péremption dépassée, (4) d'ouverture des'emballages ou (5) de tous autres signes de détérioration.

PRELEVEMENT, STOCKAGE ET TRANSPORT

Les échantillons en vue de l'isolement des bactéries aérobies, anaérobies et difficiles comme *Nesseria gonorrhoeae* doivent être prélevés et manipulés selon les recommandations publiées (2, 3, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Pour maintenir la viabilité optimale des microorganismes, l'intégrité des antigènes et acides nucléiques transporter les échantillons collectés avec le dispositif Eswab directement au laboratoire au plus tard deux heures après le prélèvement (2, 3, 4). En cas de retard dans le transport ou la mise en oeuvre du test, les échantillons peuvent être conservés à 4-8°C ou à température ambiante au maximum 48 heures à l'exception de *Neisseria gonorrhoeae* dont la culture doit être effectuée au maximum au bout de 24 heures.

Les échantillons destinés à l'étude des acides nucléiques et des antigènes bactériens, viraux ou de Chlamydia peuvent être conservés au maximum 5 jours à température ambiante, une semaine à 4°C ou bien 6 mois à -20° C.

Si les échantillons doivent servir à la culture et à l'étude des antigènes et des acides nucléiques considérer les temps et les conditions de température de transport et de stockage indiqués ci-dessus.

Respecter la réglementation en vigueur spécifique à l'envoi et la manipulation des prélèvements biologiques (19, 22, 23). L'envoi d'échantillons doit être en conformité avec les exigences internes définies dans le guide du laboratoire. Tous les échantillons doivent être pris en charge par le laboratoire dans les plus brefs délais après réception.

MATERIEL FOURNI

Le dispositif ESwab de Copan est un système de prélèvement et de collecte d'échantillon. Chaque boîte contient 50 dispositifs unitaires et chaque carton 10 x 50 dispositifs. Chaque étui contenant: un tube en polypropylène à vis et à fond conique en polypropylène contenant 1 ml de milieu de transport liquide d'Amies et un écouvillon de prélèvement avec embout floqué avec des fibres souples de Nylon (voir Figures 1 - voir le texte anglais). Il existe trois types de dispositifs de prélèvement différents contenant le même milieu de transport mais ayant différents types d'écouvillons pour le prélèvement : un premier dispositif de prélèvement avec un écouvillon floqué de taille standard pour le prélèvement nasal, pharyngé, vaginal, rectal, des selles et des plaies ; un dispositif de prélèvement avec un écouvillon muni d'un embout floqué de petite taille pour le prélèvement de zones plus difficiles d'accès des yeux, des oreilles, des fosses nasales, de la gorge et du tractus urogénital ; un troisième dispositif de prélèvement nasal composé d'un écouvillon floqué pour la sphère nasale, pharyngée et les applications en néonatalogie. Ces trois types de dispositifs sont destinés à faciliter le prélèvement de différentes zones du patient. Se référer à la description spécifique à chaque dispositif pour une information plus détaillée.

Tous les écouvillons ESwab ont une zone de rupture facilitée de la tige qui est indiquée par un trait de couleur sur celle-ci. Après le prélèvement de l'échantillon, l'écouvillon cassé facilement au niveau de la zone de rupture indiquée, est introduit sans difficulté dans le milieu de transport ESwab Les tubes ESwab sont munis d'un système intégré au bouchon permettant de capturer la tige de l'écouvillon cassé lors de la fermeture du tube. Le vissage du bouchon sur le tube déplace l'extrémité cassée de l'écouvillon en la bloquant fermement par friction dans la fente préformée du bouchon. Lors du test de laboratoire, le bouchon qui est dévissé contient l'écouvillon fixé. Ce système permet au technicien de sortir facilement à la main l'écouvillon du tube de transport et d'effectuer les diverses analyses microbiologiques en utilisant le bouchon comme la poignée d'un applicateur. Du fait de la souplesse de la tige de l'écouvillon petit, nasal, urétral et pédiatrique, (481CE, 482CE, 483CE et 484CE), la capture par le bouchon n'est pas possible pour ces dispositifs car la tige cassée ne peut pas pénétrer fermement pour se fixer dans le bouchon.

MATERIELS NECESSAIRES NON FOURNIS

Matériels appropriés pour la culture et l'isolement des bactéries aérobies, anaérobies et difficiles et pour l'extraction, l'amplification des acides nucléiques et des antigènes bactériens, viraux et de Chlamydia ; boîtes ou tubes de milieux de culture et systèmes d'incubation, jarre ou cabine anaérobie, système d'extraction pour les tests de biologie moléculaire. Se référer aux manuels de référence pour les recommandations concernant la culture et l'identification des bactéries aérobies, anaérobies et difficiles ainsi que l'amplification et a détection rapide des antigènes bactériens, viraux et de Chlamydia à partir des échantillons cliniques obtenus par écouvillonnage. (17, 18, 21, 22, 43).

PROCEDURE

Le dispositif de prélèvement et de transport ESwab de Copan est disponible selon les présentations indiquées dans le tableau ci-dessous : Tableau 1

Catalog N.	Description du dispositif ESwab	Présentation	Type de prélèvement*	Bouchon Capture
480CE 490CE.A	Dispositif de prélèvement et de transport unitaire stérile contenant: - 1 tube en polypropylène à fond conique bouchon vis rose contenant 1ml de milieu de Amies liquide. - un écouvillon standard avec embout floqué avec des fibres de Nylon.	50 dispositifs par boîte 10X50 dispositifs par carton	Nez, gorge, vagin, rectum, selles et plaies	OUI
481CE 491CE.A	Dispositif de prélèvement et de transport unitaire stérile contenant: - 1 tube en polypropylène à fond conique bouchon vis orange contenant 1ml de milieu de Amies liquide. - un écouvillon avec embout de petite taille floqué avec des fibres de Nylon.	50 dispositifs par boîte 10X50 dispositifs par carton	Yeux, oreilles, fosses nasales, gorge, tractus urogénital.	NON
482CE	Dispositif de prélèvement et de transport unitaire stérile contenant: - 1 tube en polypropylène à fond conique bouchon vis bleu contenant 1ml de milieu de Amies liquide. - un écouvillon nasal avec embout floqué avec des fibres de Nylon.	50 dispositifs par boîte 10X50 dispositifs par carton	Sphère nasale et pharyngée et échantillons pédiatriques.	NON
483CE	Dispositif de prélèvement et de transport unitaire stérile contenant: - 1 tube en polypropylène à fond conique bouchon vis orange contenant 1ml de milieu de Amies liquide. - un écouvillon urétral taille standard avec embout floqué avec des fibres de Nylon.	50 dispositifs par boîte 10X50 dispositifs par carton	Tractus urogénital.	NON

484CE	Dispositif de prélèvement et de transport unitaire stérile contenant : - 1 tube en polypropylène à fond conique bouchon vis bleu contenant 1ml de milieu de Amies liquide. - un écouvillon pédiatrique avec un embout floqué avec des fibres de Nylon.	50 dispositifs par boîte 10X50 dispositifs par carton	Echantillons pédiatriques	NON
493CE02	Dispositif d'échantillonnage unitaire stérile contenant : - 1 tube en polypropylène bouchon à vis rose contenant 1ml de terrain de transport liquide Amies. - Un écouvillon rose de taille standard avec un embout floqué en nylon et un tampon blanc de taille standard avec un embout floqué en nylon	50 dispositifs par boîte 10x50 dispositifs par carton	Nez, gorge, périnée	OUI
493CE03	Dispositif d'échantillonnage unitaire stérile contenant : - 1 tube en polypropylène bouchon à vis rose contenant 1ml de terrain de transport liquide Amies. - deux écouvillons roses de taille standard avec un embout floqué en nylon et un tampon blanc de taille standard avec un embout floqué en nylon	50 dispositifs par boîte 10x50 dispositifs par carton	Nez, gorge, périnée	OUI

D'autres codes produits sont disponibles. Consulter les mises à jour sur notre site Internet: www.copaninnovation.com

Une évaluation du système ESwab a été effectuée sur des souches collectées sur un écouvillon en suivant les protocoles décrit dans le manuel de standardisation de CLSI M40-A (4) . Aucun test n'a été effectué sur des échantillons d'origine humaine.

Collecte des échantillons

Le prélèvement de l'échantillon du patient doit être effectué correctement car c'est un point très critique pour l'isolement et l'identification des germes pathogènes. Il est donc conseillé de consulter les procédures publiées dans les manuels de référence (2, 17, 18, 20, 21, 22).

1. Sortir le tube de transport et l'écouvillon stérile de son étui.
2. Sortir l'écouvillon de son emballage stérile et prélever l'échantillon du patient.
3. Dévisser puis enlever aseptiquement le bouchon du tube.
4. Insérer l'écouvillon dans tube jusqu'au niveau du trait de couleur indiquant le point optimal de rupture de la tige. Rompre la tige et éliminer le morceau de tige en excès dans un contenant approprié.
5. Refermer le tube en vissant fermement le bouchon.
6. Noter les données du patient sur l'étiquette du tube. Envoyer l'échantillon au laboratoire.

Pour les systèmes de collecte Eswab MRSA codes 493 :

1. Ouvrir l'enveloppe contenant le tube de transport et les écouvillons de prélèvement.
2. **Utiliser le bouchon ROSE pour prendre le premier échantillon** (par ex. : gorge, périnée, nez ou n'importe quel autre point de prélèvement), ouvrir ensuite le tube.
3. Insérer l'écouvillon utilisé pour le prélèvement dans le terrain de transport Amies jusqu'à ce qu'il touche le fond du tube. **Immerger et agiter l'écouvillon pendant 5 secondes.**
4. **Extraire le tampon** au-dessus du niveau du liquide et le presser 5 fois contre les parois du tube pour favoriser la sortie de l'échantillon des fibres de l'écouvillon. Retirer l'écouvillon et boucher le tube.
5. Jeter l'écouvillon rose dans le conteneur Biohazard.
6. **Utiliser l'écouvillon BLANC pour prendre le dernier échantillon** (par ex. : gorge, périnée, nez ou n'importe quel autre point de prélèvement), ouvrir ensuite le tube.
7. **Insérer l'écouvillon dans le tube et le casser à l'intérieur de celui-ci au niveau du point de fracture.**
8. **Refermer le tube contenant l'écouvillon BLANC, indiquer les données du patient sur l'étiquette du tube et l'envoyer au laboratoire pour les analyses.**

Répéter les points de 2 à 5 si le système de collecte Eswab MRSA **est composé de 2 écouvillons roses, utiliser le second écouvillon pour prélever le second échantillon** par ex. : gorge, périnée, nez ou n'importe quel autre point de prélèvement.

Si tel n'est pas le cas, passer au point 7.

Porter des gants stériles, des lunettes et des vêtements de protection lors du prélèvement et de la manipulation d'échantillons microbiologiques. Eviter d'engendrer des projections et des aérosols quand la tige est cassée dans le milieu de transport liquide.

Ne pas toucher la zone située entre le trait coloré du point de rupture et l'embout floqué de nylon afin de ne pas invalider les résultats à cause d'une contamination (voir Figure 3 - voir le texte anglais).

Saisir l'écouvillon entre les doigts uniquement au dessus du trait de couleur comme indiqué en Figure 3 (voir le texte anglais). Après le prélèvement, introduire l'écouvillon dans le milieu de transport ESwab puis rompre la tige au niveau du trait indiquant le point de rupture. Eliminer alors la partie de la tige extérieure au tube dans un récipient approprié. Revisser fermement le bouchon sur le tube.

Lors du test, le bouchon du tube ESwab est dévissé puis retiré. La tige cassée dans le tube de transport est fixée au bouchon lors du revissage de celui-ci. L'opérateur peut récupérer l'écouvillon par le bouchon et le manipuler pour effectuer les différentes analyses microbiologiques. La souplesse de l'écouvillon petit, nasal, urétral et pédiatrique, (481CE, 482CE, 483CE et 484CE) ne permet pas la capture de la tige par le bouchon car la tige cassée ne tient pas fermement dans le bouchon.

Ensemencement de milieu de culture à partir d'un écouvillon ESwab

Les échantillons ESwab doivent être ensemencés par des techniques et sur des milieux de culture bactériologique recommandés en fonction du type de germe recherché. Pour l'isolement et l'identification des bactéries à partir d'échantillons obtenus par écouvillonnage se référer aux guides et manuels de microbiologie publiés (17, 18, 21, 24, 25).

La recherche des bactéries aérobies, anaérobies et difficiles comme *Neisseria gonorrhoeae* à partir de prélèvement sur écouvillon nécessite en routine l'ensemencement de milieux de culture en boîtes gélosées selon la procédure décrite ci-dessous :

Remarque: Porter des gants en latex et toutes autres protections relatives à la manipulation d'échantillons cliniques. Observer les recommandations pour la protection biologique de niveau 2 du CDC (34, 35, 36, 37).

1. Agiter vigoureusement les tubes ESwab contenant l'échantillon entre le pouce et l'index pendant 5 secondes puis mélanger le tube au vortex pendant 5 secondes pour éluer l'échantillon contenu dans l'embout et répartir de manière homogène l'échantillon à tester dans le milieu de transport liquide.
2. Si l'échantillon est utilisé pour des tests de biologie moléculaire, transférer d'abord une aliquote de l'échantillon dans un tube stérile avant d'utiliser l'écouvillon pour la culture sur boîte.
3. Dévisser le bouchon du tube ESwab puis retirer l'écouvillon.
4. Ensemencer à l'aide de l'écouvillon ESwab le quart de la surface d'une boîte de milieu de culture pour obtenir une culture primaire de l'inoculum.
5. Si nécessaire ensemencer une seconde boîte comme à l'étape 3 en ayant préalablement immergé à nouveau l'embout de l'écouvillon dans le milieu de transport contenant l'échantillon élué.
6. Si nécessaire ensemencer d'autres boîtes de milieu comme à l'étape 3 en ayant préalablement immergé à nouveau l'embout de l'écouvillon dans le milieu de transport contenant l'échantillon élué.

La procédure décrite ci-dessus utilise l'écouvillon ESwab comme une anse pour transférer la suspension d'échantillon du patient du milieu de transport vers la surface d'une gélose pour effectuer une culture primaire (voir Fig. 5 - voir le texte anglais). Une autre méthode consiste à mélanger le tube ESwab au vortex pendant 5

secondes puis transférer 100µl de la suspension de l'inoculum primaire sur chaque boîte de milieu de culture à l'aide d'une micropipette à embouts stériles. Les techniques standardisées de laboratoire sont alors utilisées pour ensemençer par épuisement l'échantillon primaire du patient à la surface de la gélose (voir Fig. 6 - voir le texte anglais).

La capture par le bouchon de la tige de l'écouvillon n'est pas possible avec les écouvillons petits, nasaux, urétraux et pédiatriques (481CE, 482CE, 483CE et 484CE) du fait de la souplesse de la tige empêche sa fixation dans le bouchon. Ces écouvillons ne peuvent pas servir d'anse pour l'ensemencement. Il faut alors mélanger le tube ESwab au vortex pendant 5 secondes puis transférer 100µl de la suspension dans chaque boîte de milieu à l'aide d'une micropipette à embouts stériles.

Emploi du ESwab avec systèmes automatiques

Quelques références du ESwab peuvent être utilisées avec des systèmes automatiques. Référez-vous aux instructions du producteur de l'automatisation pour le processus du ESwab. La capture par le bouchon de la tige de l'écouvillon n'est pas possible avec les écouvillons petits, nasaux, urétraux et pédiatriques (481CE, 482CE, 483CE et 484CE) du fait de la souplesse de la tige empêche sa fixation dans le bouchon. Utiliser une pince pour extraire l'applicateur du tube avant le charger dans la machine, pour éviter interférences.

Préparation de frottis pour la coloration de Gram à partir d'échantillon ESwab

Pour certains prélèvements cliniques il peut être nécessaire d'effectuer une coloration de Gram d'un frottis obtenus à partir d'un écouvillonnage de certaines zones du patient afin d'effectuer un examen microscopique direct de la préparation colorée selon la procédure de coloration de Gram pour fournir une information pertinente au clinicien lors du suivi de maladies infectieuses (26). Il y existe plusieurs possibilités d'aide au diagnostic par la coloration de Gram comme par exemple le prélèvement endocervical ou urétral en cas de suspicion d'une infection à *Neisseria gonorrhoeae* ou le prélèvement par écouvillonnage vaginal en cas de vaginite bactérienne (27, 28, 29, 30, 31, 39). La coloration de Gram peut aussi aider à juger de la qualité de l'échantillon et contribuer au choix des milieux sélectifs particulièrement en présence d'une flore mixte. (32).

Les échantillons de prélèvement de patients obtenues à partir du système Copan ESwab peuvent être utilisés pour le test de la coloration de Gram, comme décrit ci-dessous en utilisant un aliquote de suspension homogénéisée au vortex provenant de l'écouvillon (21, 32).

L'échantillon transporté dans le milieu d'élution Eswab représente une suspension homogène en phase liquide. Il peut être mis sur la lame en manière uniforme et peut donner suite à la lecture facile et propre de la lame même.

Remarque: Porter des gants en latex et toutes autres protections relatives à la manipulation d'échantillons cliniques. Observer les recommandations pour la protection biologique de niveau 2 du CDC (34, 35, 36, 37).

1. Placer une lame propre de microscope sur une surface plane et identifier les échantillons à tester sur la lame à l'aide d'un marqueur indélébile ou d'un stylo à diamant.

Note: une lame avec un endroit circulaire pré marqué de 20 mm de diamètre peut être utilisée .

2. Mélanger au vortex le tube ESwab contenant l'échantillon pendant 5 secondes pour éluer la charge de l'embout et répartir de manière homogène l'échantillon dans le milieu de transport liquide de Amies.

3. Dévisser le bouchon du tube ESwab et à l'aide d'une pipette stérile transférer 1 à 2 gouttes de milieu liquide de Amies dans la zone test identifiée sur la lame.

Note: env. 30ul de suspension de milieu Amies liquide à mettre dans l'endroit circulaire pré marqué de 20 mm de diamètre serait suffisant.

4. Sécher l'échantillon sur la lame à l'aire à température ambiante ou mettre la lame dans un incubateur à une température de 42°C maxi.

5. Fixer l'échantillon sur la lame avec du méthanol. On préconise l'emploi du méthanol car il prévient la rupture des globules rouges, évite les dommages aux cellules hôte pour avoir un background très propre (21, 26, 32).

6. Suivre les guides et manuels de référence pour la coloration de Gram. Pour les colorants de Gram du commerce il est important de suivre la notice d'utilisation du fabricant pour effectuer le test.

Consulter les guides et manuels de référence pour plus d'information ou d'aide au sujet de la préparation des échantillons sur lame (20, 24, 25, 26, 32).

Procédure d'utilisation des échantillons d'écouvillonnage ESwab pour les tests de biologie moléculaire.

Les échantillons reçus pour effectuer des tests de biologie moléculaire doivent être pris en charge immédiatement par le laboratoire.. En cas de retard, se référer aux conditions de stockage décrites et appropriées à l'échantillon prélevé.

Remarque: Porter des gants en latex et toutes autres protections relatives à la manipulation d'échantillons cliniques. Observer les recommandations pour la protection biologique de niveau 2 (34, 35, 36, 37).

Les méthodes de biologie moléculaire nécessitent un soin particulier pour éviter les contaminations. Des aires de travail séparées et un sens du travail monodirectionnel sont essentiels pour éviter les contaminations croisées des amplicons (42).

1. Mélanger le tube ESwab au vortex pendant 10 secondes, dévisser le bouchon et l'utiliser pour saisir et manipuler l'écouvillon, faire tourner le bouchon entre le pouce et l'index pour drainer le plus de liquide de l'embout. Après avoir fait tourné l'embout de l'écouvillon pour une extraction maximale du fluide contenu dans l'embout.
2. Eliminer l'écouvillon et transférer le volume approprié d'échantillon dans un tube à extraction selon la procédure standard du laboratoire.
3. ESwab a été validé avec les méthodes d'extraction suivantes : membrane Silica-gel, billes magnétiques, solvants organiques, thermique. D'autres méthodes peuvent être appliquées sans pour autant avoir été validé.
4. Stocker l'échantillon ESwab à -20°C si l'extraction est différée.
5. ESwab a été validé avec les méthodes d'amplification.

Procédure d'utilisation des échantillons ESwab pour la recherche rapide d'antigène.

1. Mélanger le tube ESwab au vortex pendant 10 secondes.
2. Utilise l'échantillon liquide ou l'écouvillon pour effectuer le test selon les procédures standardisées du kit et du laboratoire.
Comme la capture par le bouchon de la tige de l'écouvillon n'est pas possible avec les écouvillons petits, nasaux, urétraux et pédiatrique du fait de la souplesse de leur tige (481CE, 482CE, 483CE et 484C) empêchant la fixation dans le bouchon, utiliser une pince pour extraire l'applicateur du tube.

CONTROLE DE QUALITE

Tous les lots de ESwab sont testés pour la stérilité, l'absence d'inhibiteurs, l'absence de protéases. Tous les lots d'écouvillons sont testés pour l'absence de toxicité bactérienne. Le milieu de transport liquide d'Amies ESwab est testé pour la stabilité de son pH et sa capacité biologique à effectuer correctement le test de coloration de Gram selon l'Institut de normalisation des laboratoires cliniques M40-A (4). Chaque lot produit de ESwab est testé pour sa capacité à maintenir en vie les bactéries à 4-8°C et à température ambiante (20-25°C) à des temps spécifiques sur un panel de bactéries aérobies, anaérobies et difficiles par la méthode d'ensemencement en boîte de Pétri et la méthode d'élution (4). Les études de viabilité incluent également un contrôle de la surcroissance bactérienne à 4 – 8°C de inférieure ou égale à une augmentation de un log à un temps donné. Chaque lot est analysé pour son activité d'inhibition et enzymatique pouvant interférer sur l'amplification des acides nucléiques. Les DNase et RNase sont des enzymes qui dégradent les acides nucléiques peuvent empêcher l'amplification des acides nucléiques. La présence de RNase dans le milieu de transport et de stockage peut engendrer des résultats faussement négatifs. Le contrôle consiste à ajouter une quantité connue d'ADN ou d'ARN (échelle en Kb) dans le milieu ESwab et d'évaluer le degré d'intégrité de l'ADN et de l'ARN.

Les procédures de contrôle de qualité bactériologiques du dispositif de transport utilisant la méthode quantitative d'élution et la méthode qualitative d'ensemencement sur boîtes gélosées sont décrites par l'Institut de Standardisation des Laboratoires Cliniques M40-A et autres publication (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). En cas de résultats aberrants du contrôle de qualité, les résultats du patient ne doivent pas être validés.

LIMITES

1. Dans le laboratoire porter des gants en latex et toute protection adaptée à la manipulation d'échantillons cliniques. Observer les recommandations du CDC sur la manipulation et l'analyse des produits biologiques de niveau 2 (34, 35, 36, 37).
2. L'utilisation du ESwab pour des prélèvements du tractus urogénital de la femme enceinte n'a pas été évaluée.
3. Les conditions, le volume et le temps de prise en charge des échantillons collectés peuvent engendrer des variations significatives pouvant diminuer la qualité des résultats de la culture. Suivre les recommandations de collecte des échantillons (2, 3, 17, 18, 20, 21, 24).
4. ESwab est un milieu de transport pour le prélèvement et le transport des échantillons en vue de la culture et l'isolement des bactéries aérobies, anaérobies et difficiles comme *Nisseria gonorrhoeae* ; de la détection rapide des antigènes bactériens, viraux et de Chlamydia et des acides nucléiques. Ce produit n'est pas adapté au maintien en vie des virus et des Chlamydia.
5. ESwab doit être utilisé comme un dispositif complet comprenant le tube de milieu de transport et l'écouvillon fourni. L'utilisation de toutes autres sources de tubes de milieu ou d'écouvillons n'est pas qualifiée pour être utilisée avec le dispositif ESwab et peut affecter les performances du résultat du test du laboratoire.
6. ESwab a été validé avec les méthodes d'extraction suivantes : membrane Silica-gel, billes magnétiques, solvants organiques, thermique. D'autres méthodes peuvent être appliquées sans pour autant avoir été validé.
7. Après extraction de l'ADN, un aliquote de milieu ESwab peut être amplifié sans passer par la phase de purification. Dans ce cas, il est suggéré d'effectuer une dilution au 1:5 du milieu ESwab.

PRECAUTIONS

-  Ce produit est à usage unique exclusivement ; toute réutilisation pourrait engendrer un risque d'infection et/ou des résultats erronés
- Ne pas re-stériliser les écouvillons non utilisés.
- Ne pas reconditionner après ouverture.
- Ne pas utiliser pour des prélèvements autres que les bactéries aérobies, anaérobies et difficiles.
- Ne pas utiliser pour toutes autres applications que celle précisées dans cette notice.
- L'utilisation de ce produit avec un kit de diagnostic rapide ou un instrument de diagnostic doit être préalablement validée par l'utilisateur.
- Ne pas utiliser les écouvillons montrant une détérioration (ex : si l'embout ou la tige de l'écouvillon sont cassés).
- Ne pas trop forcer ou comprimer l'écouvillon lors du prélèvement sur le patient afin de ne pas briser la tige de l'écouvillon.
- L'écouvillon est considéré comme un dispositif médical de Classe IIa selon la Directive Européenne des Dispositifs Médicaux 93/42/EEC – Usage pour transit chirurgical invasif.
- Class IIa signifie que les écouvillons peuvent être utilisés pour prélever les surfaces et les orifices corporels comme par exemple ; le nez, la gorge, le vagin et les plaies chirurgicales profondes.
- Ne pas avaler le milieu.
- Suivre attentivement les instructions de la notice d'utilisation. Le fabricant ne peut être responsable de l'utilisation du produit par des personnes non qualifiées ou non autorisées.
- Du fait de la souplesse de la tige des écouvillons petits, naseaux, urétraux et pédiatriques (481CE, 482CE, 483CE et 484CE), la capture de la tige cassée par le bouchon n'est pas possible du fait de la difficulté de fixation.
- A n'utiliser que par du personnel formé.
- Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec les précautions appropriées. Jeter les tubes et les écouvillons usagés après utilisation selon la réglementation et les recommandations de Sécurité Biologique de Niveau 2 du CDC (34, 35, 36, 37).
- Ne pas utiliser le milieu ESwab pour humecter ou mouiller l'écouvillon avant le prélèvement de l'échantillon ou pour rincer ou irriguer la zone du prélèvement.

RESULTATS

Les résultats obtenus dépendent très largement du prélèvement correct et approprié de l'échantillon aussi bien que de la durée du transport et de la prise en charge de l'échantillon au laboratoire.

PERFORMANCES/ CARACTERISTIQUES

En routine de laboratoire clinique, la méthode d'ensemencement par écouvillonnage est le premier moyen mis en place pour l'ensemencement des milieux gélosés à partir d'un écouvillon. Cette méthode est limitée (4) pour l'étude de viabilité car elle n'est pas quantitative mais au mieux semi quantitative. D'autre part, les méthodes d'étude de viabilité quantitatives par élution des écouvillons (4) ne correspondent pas à la procédure généralement la plus fréquemment adoptée par les laboratoires cliniques. Alors que la procédure d'élution par écouvillonnage permet une quantification de la capacité du système de transport à maintenir en vie les germes, la méthode d'écouvillonnage sur gélose prend en compte certaines variables mécaniques liées directement à l'écouvillonnage et pouvant influencer le dépôt de l'échantillon sur la boîte de culture. De ce fait, les deux méthodes d'étude de la viabilité ont été utilisées pour définir les caractéristiques de performance du système de prélèvement et transport ESwab de Copan.

La procédure employée pour déterminer la viabilité bactérienne se base sur les méthodes de contrôle de qualité décrites par l'Institut de normalisation des Laboratoire Cliniques M40-A (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Les souches de contrôle utilisées dans cette étude sont définies dans le document M40-A pour établir les réclamations qualité et le contrôle de qualité des systèmes de transport. Le panel comprend les bactéries aérobies, anaérobies et difficiles. Un groupe de germes supplémentaires non requis ou spécifiés dans le document M40-A a été testé pour obtenir davantage d'informations sur la viabilité de bactéries spécifiques. Les études de viabilité du dispositif Copan ESwab sont effectuées à deux gammes différentes de, 4 – 8 °C et 20 – 25°C, correspondant respectivement au réfrigérateur et à la température ambiante. Les écouvillons accompagnant chaque milieu de transport sont ensemencés en triple avec 100µl of de suspension du germe à des concentrations spécifiques. Les écouvillons placés dans le milieu de transport sont conservés pendant 0 heures, 24 heures et 48 heures. A intervalle de temps réguliers et définis chaque écouvillon est utilisé pour ensemencer selon la méthode d'écouvillonnage ou d'élution.

Le système de prélèvement et transport ESwab permet de préserver l'ADN, l'ARN et les antigènes des bactéries, virus et Chlamydia pendant au moins 5 jours à température ambiante (20-25°C); 7 jours à 4° C et 6 mois à -20°C.

ESwab est exempt de DNase et de RNase ; enzymes qui interfèrent sur la procédure d'amplification.

Les souches de contrôle testées se répartissent en trois groupes (voir paragraphe ci-dessous):

1. Aérobie et anaérobie facultatives:
Pseudomonas aeruginosa ATCC® BAA-427, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 6305, *Haemophilus influenzae* ATCC® 10211.
2. Anaérobies:
Bacteroides fragilis ATCC® 25285, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC® 25586, *Propionibacterium acnes* ATCC® 6919, *Prevotella melaninogenica* ATCC® 25845.
3. Bactéries exigeantes:
Neisseria gonorrhoeae ATCC® 43069.

Souches de contrôle supplémentaires évaluées:

Enterococcus faecalis (Vancomycin resistant Enterococcus VRE) ATCC® 51299, *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA) ATCC® 43300, *Streptococcus agalactiae* (Group B Streptococcus) ATCC® 13813, *Clostridium perfringens* ATCC® 13124, *Clostridium sporogenes* ATCC® 3584, *Fusobacterium necrophorum* ATCC® 25286, *Peptococcus magnus* ATCC® 29328.

REMARQUE

Pour les réclamations qualité et les tests de viabilité, les bactéries ont été classées en trois groupes comme décrits dans le manuel M40-A de CLSI (4) selon leur besoin en oxygène nécessaire à leur croissance:

1. Aérobie et Anaérobies facultatives

Les bactéries aérobies ont besoin d'air ou d'oxygène pour vivre. Les anaérobies facultatives peuvent survivre de présence ou en absence d'oxygène. De nombreuses bactéries aérobies sont anaérobies facultatives c'est à dire qu'elles peuvent se développer en absence d'oxygène. Raison pour laquelle le groupe des bactéries aérobie inclue la description des anaérobies facultative ;

2. Anaérobies

Les bactéries anaérobies ne nécessitent pas d'air ou d'oxygène pour vivre. Cette catégorie inclue les anaérobies strictes qui ne peuvent vivre qu'en absence d'oxygène.

3. Bactéries difficiles.

Les bactéries difficiles qui ont des besoins complexes ou très stricts pour pouvoir se développer sont représentées par la bactérie *Neisseria gonorrhoeae*.

En accord avec le manuel M40-A CLSI et à l'exception de *Neisseria gonorrhoeae*, les performances de viabilité sont mesurées pour chaque souche à tester au bout de 48 heures et comparés avec les critères de validation. La viabilité de *Neisseria gonorrhoeae* est mesurée au bout de 24 heures. Le système ESwab a été évalué par les deux méthodes (élution et écouvillonnage) a montré sa bonne capacité de recouvrement de toutes les souches étudiées stockées au réfrigérateur (4-8°C) et à température ambiante (20-25°C). Le taux de recouvrement acceptable par la technique d'ensemencement par écouvillonnage est supérieur ou égal à 5 CFU au temps zéro et à la dilution spécifique pour atteindre 300 CFU au bout de l'intervalle de temps défini. Le taux de recouvrement acceptable par la méthode d'élution des écouvillons ne diminue pas de plus de trois logarithmes décimaux à 10 % près entre le début et la fin de l'incubation.

L'étude de viabilité inclue également l'étude de la sur croissance à 4-8°C. Par la méthode d'élution le contrôle de la surcroissance est effectué sur toutes les souches au bout de 48 heures précisément à l'exception de *Neisseria gonorrhoeae* qui n'est incubé que 24 heures. Le critère de sur croissance par la méthode d'élution correspond une augmentation d'au moins un logarithme décimal des CFU entre le début et la fin de l'incubation. Pour la méthode d'ensemencement par écouvillonnage la surcroissance est analysée séparément avec des écouvillons calibrés avec 10^2 CFU de *Pseudomonas aeruginosa*. Dans ces conditions, la surcroissance est définie comme une augmentation des CFH supérieure à un logarithme décimal entre le temps zéro et 24 heures. Le système de prélèvement et de transport ESwab ne présente pas de sur croissance à la fois par la méthode d'élution des écouvillons et par la méthode d'ensemencement par écouvillonnage sur la base des critères décrits dans le manuel M40-A de l'Institut de Normalisation du Laboratoire Clinique.

DEUTSCH

Entnahme- und Transportsystem Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab)

(DE) ANWENDUNG

Das Entnahme- und Transportsystem Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) dient der Entnahme und dem Transport klinischer Proben aerober und anaerober anspruchsvoller Bakterien oder Chlamydien. Im Labor werden anhand von ESwab-Proben folgende Untersuchungen im Standardverfahren durchgeführt:

- Analyse von aeroben und anaeroben anspruchsvollen Bakterienkulturen
- Untersuchung der Antigene und der Nukleinsäuren von Bakterien, Viren und Chlamydien.

SYNTHESE UND WIRKSTOFFE

Die Entnahme und der sichere Transport von mikrobiologischen Proben sind Routineverfahren zur Diagnose von bakteriellen Infekten und können mit Hilfe des Copan Liquid Amies Elution Swab-Systems (ESwab) durchgeführt werden. Das Transportmedium des Copan ESwab-Systems besteht aus einem modifizierten Amies-Medium, welches der Konservierung vieler verschiedener Arten von aeroben, anaeroben und anspruchsvollen Bakterien von besonderer klinischer Relevanz, wie z.B. *Neisseria gonorrhoeae*, dient.

Da das ESwab-Transportmedium frei von Enzymen und Hemmstoffen ist, welche die Nukleinsäureamplifikation beeinflussen, kann es zum Zwecke der Stabilisierung der Viren-, Bakterien- oder Chlamydien-Antigene und der Nukleinsäuren während des Transports zum Labor verwendet werden.

Das Transportmedium ESwab ermöglicht die Konservierung von Bakterien und besteht aus einer Pufferlösung aus anorganischem Phosphat, Kalzium- und Magnesiumsalzen sowie Natriumchlorid in einer mit Thioglykolat (1) reduzierten Umgebung.

Copan ESwab besteht: einem Reagenzglas aus Polypropylen mit Etikett und Schraubverschluss mit konischem Boden, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium, und einem Applikator mit Tupfer aus Nylon-Flockfaser für die Entnahme der Probe.

Es gibt drei verschiedene Typen: einen Applikator mit Tupfer in Standardgröße aus Nylon zur Entnahme von Proben aus Rachen, Scheide, Wunden, After oder Stuhl; einen Applikator mit Mini-Tupfer zur Entnahme von Proben aus engen und schwer zugänglichen Stellen wie Augen, Ohren, Nase, Nasen-Rachen-Raum, Rachen, Urogenitalbereich, während der dritte Typ einen Nasenapplikator mit Tupfer aus Nylon-Flockfaser enthält, der für die Entnahmen aus dem Nasen-Rachen-Raum oder die Anwendung in der Pädiatrie geeignet ist. Außerdem existieren noch zwei weitere Sonderapplikatoren, eines für die Entnahme aus der Urethra und das andere zum Einsatz im Pädiatriebereich, die zur Leistungsverbesserung sowie zur Verringerung des Leidens der Patienten entwickelt wurden.

Es empfiehlt sich, den Applikator sofort nach der Entnahme der Probe in das ESwab-Reagenzglas einzuführen und die mit Hilfe des ESwab-Systems entnommene Probe vor Ablauf von 2 Stunden ins Labor zu transportieren, um die Bakterien optimal zu konservieren (2,3,4). Verzögert sich der Transport oder die Untersuchung sollten die Proben zwischen 4°C und 8°C eingefroren oder bei einer Umgebungstemperatur von 20-25°C aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden analysiert werden (für *Neisseria gonorrhoeae* sollte die Analyse innerhalb von 24 Stunden erfolgen). Unabhängige wissenschaftliche Untersuchungen haben ergeben, dass die Bakterien besser konserviert werden, wenn die Proben eingefroren werden.

Werden die Tupfer mit Bakterien-, Viren- und Chlamydia-Antigenen sowie Nukleinsäuren in einer Raumtemperatur von 20 bis 25°C aufbewahrt, wird eine Untersuchung von innerhalb 5 Tagen empfohlen; werden sie bei 4°C aufbewahrt, müssen sie innerhalb von 7 Tagen untersucht werden. Bei Aufbewahrung bei -20°C beträgt die Untersuchungsfrist 6 Monate.

REAGENZIEN

Copan ESwab enthält ein modifiziertes flüssiges Amies-Transportmedium. Siehe englischen Text.

TECHNISCHER HINWEIS

Das modifizierte Amies Medium kann trüb sein, was normal und durch die Salze im Medium bedingt ist.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Treffen Sie sämtliche der Biosicherheit dienenden Vorsichtsmaßnahmen und wenden Sie die entsprechenden aseptischen Techniken an. Das Produkt sollte nur von entsprechend geschultem und qualifiziertem Personal angewendet werden.
- Alle Proben und alles verwendete Material sind als potentiell infektiös zu behandeln und müssen so gehandhabt werden, dass eine Ansteckung des Laborpersonals ausgeschlossen ist. Sterilisieren Sie nach dem Gebrauch alle Abfälle, die eine biologische Gefährdung darstellen könnten, wie z.B. Proben, Behälter und Transportmedien. Halten Sie sich außerdem an die Vorschriften der CDC, Stufe 2 von 7 (34, 35, 36, 37).
- Befolgen Sie strengstens die Anweisungen.

AUFBEWAHRUNG

Dieses Produkt ist gebrauchsfertig und bedarf keiner weiteren Vorbereitung. Bewahren Sie es bis zum Gebrauch in der Originalverpackung bei 5 bis 25 °C auf. Nicht überhitzen! Nicht vor dem Gebrauch inkubieren oder einfrieren! Bei falscher Lagerung vermindert sich die Wirksamkeit des Produktes. Verwenden Sie das Produkt vor Ablauf des Verfallsdatums, das auf der äußeren Verpackung, auf jede einzelne Verpackung und auf dem Etikett des Reagenzglases angegeben ist.

PRODUKTVERSCHLEISS

Verwenden Sie Copan ESwab nicht, wenn (1) das Produkt sichtbar beschädigt oder verschmutzt ist, (2) das Produkt sichtbar undicht ist, (3) das Verfallsdatum abgelaufen ist, (4) die Verpackung des Applikators beschädigt ist oder (5) andere Anzeichen von Verschleiß sichtbar sind.

ENTNAHME, AUFBEWAHRUNG UND TRANSPORT DER PROBEN

Die Entnahme und Behandlung der Proben zur bakteriologischen Analyse, die die Isolierung aerober, anaerober und anspruchsvoller Bakterien wie *Neisseria gonorrhoeae* vorsieht, müssen entsprechend den vorliegenden Handbüchern und Anleitungen vorgenommen werden (2, 3, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Um die Bakterien optimal zu konservieren und die Unversehrtheit der Antigene und Nukleinsäuren zu gewährleisten, sollten diese möglichst innerhalb von 2 Stunden nach der Entnahme der Probe mit dem ESwab-System zum Labor transportiert werden (2,3,4). Im Falle einer Verzögerung des Transportes oder der Untersuchung sollten die Proben zwischen 4°C und 8°C eingefroren oder bei Raumtemperatur (20-25°C) aufbewahrt und innerhalb von 48 Stunden analysiert werden (für *Neisseria gonorrhoeae* sollte die Analyse innerhalb von 24 Stunden erfolgen).

Werden die Tupfer mit Bakterien-, Viren- und Chlamydia-Antigenen sowie der Nukleinsäuren in einer Raumtemperatur von 20 bis 25°C aufbewahrt, wird eine Untersuchung von innerhalb 5 Tagen empfohlen; werden sie bei 4°C aufbewahrt, müssen sie innerhalb von 7 Tagen untersucht werden und bei der Aufbewahrung in der Gefriertemperatur von -20°C beträgt die Untersuchungsfrist 6 Monate. Bei den Untersuchungen von Proben, die für die Bakterienkulturen bestimmt sind, oder der Antigen-/Nukleinsäureanalyse müssen die unten genannten Transport- und Aufbewahrungsbedingungen beachtet werden. Für den Transport der Proben sind die Richtlinien des Bundes und der einzelnen Länder zu befolgen (19, 22, 23). Für den Transport der Proben zwischen medizinischen Einrichtungen sind die internen Richtlinien der einzelnen Einrichtungen zu befolgen. Die Proben sollten sofort nach Ankunft im Labor analysiert werden.

INHALT

Copan ESwab Schachtel enthält fünfzig (50) Einheiten, während jede Kiste 10 x 50 enthält. Jedes Set besteht aus einer sterilen Verpackung mit einem Reagenzglas aus Polypropylen mit Etikett und Schraubverschluss mit konischem Boden, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium, und einem eingeschweißten Applikator mit Tupfer aus Nylon-Flockfaser für die Entnahme der Probe (Fig. 1 – siehe englischen Text).

Es gibt drei verschiedene Typen: einen Applikator mit Tupfer in Standardgröße aus Nylon-Flockfaser zur Entnahme von Proben aus Rachen, Scheide, Wunden, After oder Stuhl; einen Applikator mit Mini-Tupfer zur Entnahme von Proben aus engen oder schwer zugänglichen Stellen wie Augen, Ohren, Nase, Nasen-Rachen-Raum, Rachen, Urogenitalbereich; während der dritte Satztyp einen Nasenapplikator mit Tupfer aus Nylon-Flockenfaser für Entnahmen aus Nasen-Rachen-Raum oder bei Säuglingen enthält.

Auf dem Applikator des ESwab-Typen befindet sich eine farbige Linie, die anzeigt, wo das Applikatorstäbchen mit dem Transportmedium nach der Probeentnahme abgebrochen werden soll.

Dank der besonderen Beschaffenheit des Verschlusses in Form eines Trichters kann das abgebrochene Applikationsstäbchen fest gemacht werden. Durch das Anschrauben des Verschlusses am Reagenzglas schiebt sich das Ende des Applikationsstäbchens in einen Hohlraum.

Wenn das Reagenzglas anschließend im Labor zur Analyse geöffnet wird, bleibt der Applikator im Verschluss stecken, so dass der Laborant den Tupfer bequem entnehmen und während der mikrobiologischen Analyse den Verschluss als Griff benutzen kann. Der Verschluss mit besonderer Trichterform ist dagegen nicht für Mini-Tupfer, Nasentupfer, Urethraltupfer und die Anwendung im Pädiatriebereich vorgesehen (481CE, 482CE, 483CE und 484CE), da sie sehr biegsam sind und nicht im Innern des Hohlraums fixiert werden können.

BENÖTIGTES MATERIAL, DAS NICHT ENTHALTEN IST

ESwab enthält keinerlei Material, das der Isolierung und Kultivierung der aeroben, anaeroben und anspruchsvollen Bakterien dient, wie z.B. Objektträger oder Reagenzgläser zur Kultivierung, Inkubatoren, Gasflaschen, oder anaerobe Arbeitssysteme. Für technische Anweisungen in Bezug auf die Kultivierung und Identifizierung der aeroben, anaeroben und anspruchsvollen Bakterien in klinischen Proben konsultieren Sie die Labor-Handbücher (17, 18, 21, 22).

GEBRAUCHSHINWEISE

Das Entnahme- und Transportsystem Copan ESwab ist in folgenden Versionen erhältlich:

Tabelle 1

Katalog-Er.	Copan ESwab – Produktbeschreibung	Verpackungs-Einheit	Anwendungsgebiet	Verschluss mit Trichterform
480CE 490CE.A	Sterile Verpackung zur Probenentnahme, enthält: - Reagenzglas aus Polypropylen mit rosa Schraubverschluss und konischem Boden, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium. - Standard Tupfer aus Nylonfaser	Schachtel mit 50 Einheiten 10x50 Einheiten Pro Kiste	Rachen, Scheide, Wunden, After oder Stuhl	JA
481CE 491CEA	Sterile Verpackung zur Probenentnahme, enthält: - Reagenzglas aus Polypropylen mit orange Schraubverschluss und konischem Boden, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium. - Mini-Tupfer aus Nylonfaser.	Schachtel mit 50 Einheiten 10x50 Einheiten pro Kiste	Augen, Nase, Nasen-Rachen-Raum, Rachen, Urogenitalbereich Pädiatrie	NEIN
482CE	Sterile Verpackung zur Probenentnahme, enthält: - Reagenzglas aus Polypropylen mit blau Schraubverschluss und konischem Boden, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium. - Nasentupfer aus Nylon-Flockenfaser.	Schachtel mit 50 Einheiten 10x50 Einheiten pro Kiste	Nasen-Rachen-Raum, Pädiatrie	NEIN
483CE	Sterile Verpackung zur Probenentnahme, enthält: - Reagenzglas aus Polypropylen mit orange Schraubverschluss und konischem Boden, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium. - Urethraltupfer aus Nylon-Flockenfaser.	Schachtel mit 50 Einheiten 10x50 Einheitenpro Kiste	Urogenitalbereich	NEIN
484CE	Sterile Verpackung zur Probenentnahme, enthält: - Reagenzglas aus Polypropylen mit blau Schraubverschluss und konischem Boden, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium. - Pädiatrietupfer aus Nylon-Flockenfaser.	Schachtel mit 50 Einheiten 10x50 Einheiten pro Kiste	Pädiatrie	NEIN
493CE02	ESwab MRSA-Entnahmesystem. Sterile Einweg-Entnahmepackung, bestehend aus: - Rosarotem Polypropylen-Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischer Innenform, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium. - einem rosaroten beflochten Tupfer und einen weißen beflochten Tupfer von üblicher Größe	50 Einheiten pro Regal- verpackung 10x50 Einheiten pro Schachtel	Nasen-Rachen-Darm-Raum	JA
493CE03	ESwab MRSA-Entnahmesystem. Sterile Einweg-Entnahmepackung, bestehend aus: - Rosarotem Polypropylen-Reagenzglas mit Schraubverschluss und konischer Innenform, gefüllt mit 1ml flüssigem Amies-Transportmedium. - zwei rosarote beflochte Tupfer und einen weißen beflochten Tupfer von üblicher Größe	50 Einheiten pro Regal- verpackung 10x50 Einheiten pro Schachtel	Nasen-Rachen-Darm-Raum	JA

Die Verfügbarkeit der weiteren Produktversionen kann auf unseren Webseiten geprüft werden: www.copaninnovation.com

Der Leistungsfähigkeitstest des Copan ESwab-Systems wurde gemäß der Norm M40-A des Laboratory Standards Institutes und anhand von verschiedenen Bakterien in einer Pufferlösung durchgeführt (4). Es wurden keine menschlichen Proben verwendet.

Probenahme

Die Probenahme am Patienten sollte mit großer Achtsamkeit durchgeführt werden, da von ihr der Erfolg der Isolierung und Identifizierung der Bakterien abhängt. Für genauere Informationen zur korrekten Vorgehensweise bei der Probenahme konsultieren Sie die entsprechenden Handbücher (2, 17, 18, 20, 21, 22).

- Öffnen Sie die ESwab Verpackung, entnehmen Sie das Reagenzglas und den Applikator.
- Nehmen Sie den Applikator und entnehmen Sie die Probe am Patienten.
- Schrauben Sie den Verschluss vom Reagenzglas ab, verhindern Sie dabei die Übertragung von Keimen.

4. Führen Sie den Applikator in das Reagenzglas ein und brechen Sie das Applikatorstäbchen an der farbig markierten Stelle ab. Entsorgen Sie das abgebrochene Stück in einem für medizinische Abfälle vorgesehenen Behälter.
5. Schrauben Sie den Deckel wieder fest auf das Reagenzglas.
6. Schreiben Sie die Patientendaten auf das Etikett des Reagenzglases oder kleben Sie ein Etikett zur Identifizierung des Patienten auf das Röhrchen. Schicken Sie die Probe ins Analyselabor.

Für Eswab MRSA-Entnahmesystem, Art-Nr. 493:

1. Öffnen Sie die Peel-off-Verpackung.
2. **Verwenden Sie den rosaroten Applikator**, um die erste Probe **zu entnehmen** (z.B. Rachen, Darm, Nase oder sonstige Entnahmestellen). Schrauben Sie danach das Reagenzglas auf.
3. Stecken Sie den Applikator ganz in das flüssige Amies-Medium, bis er den Boden des Reagenzglases erreicht. **Tauchen Sie den Applikator ein und bewegen sie ihn vorsichtig für 5 Sekunden.**
4. **Ziehen** Sie den Applikator aus dem flüssigen Medium und wirbeln Sie den Applikator 5 Mal gegen die Reagenzglaswände, damit die entnommene Probe sich von der geflochtenen Faser löst. Entfernen Sie den Applikator und verschließen Sie das Reagenzglas.
5. Entsorgen Sie den rosaroten Applikator im Biomüllbehälter.
6. **Verwenden Sie den weißen Applikator, um die letzte Probe zu entnehmen** (z.B. Rachen-Darm-Nasen-Raum oder sonstige Entnahmestellen). Brechen Sie danach den Applikator an der Bruchstelle ab.
7. **Stecken Sie den Applikator in das Reagenzglas.**
8. **Schrauben Sie das Reagenzglas wieder zu, in dem sich das weiße Applikatorstäbchen befindet.** Schreiben Sie den Namen des Patienten darauf und senden Sie das Reagenzglas ins Labor.

Wiederholen Sie alle Schritte (2 bis 5), wenn Ihr ESWAB MRSA SYSTEM aus einem rosaroten Applikator besteht und verwenden Sie diesen Applikator für die zweite Probe (z.B. Rachen-Darm-Nasen-Raum oder sonstige Entnahmestellen). Anderenfalls, gehen Sie auf Schritt 7 über.

Beim Entnehmen und Arbeiten mit mikrobiologischen Proben empfehlen sich entsprechende Sicherheitsmaßnahmen, wie der Gebrauch steriler Handschuhe und einer Laborbrille zum Schutz vor eventuellen Spritzern und Aerosol beim Abbrechen des Applikatorstäbchens.

Der untere Teil des Applikatorstäbchens, d. h. die Zone zwischen der farbigen Markierung und dem Tupfer (Abb. 3 - siehe englischen Text) darf nicht berührt werden, da das Analyseergebnis durch die Übertragung von Keimen auf das Stäbchen verfälscht werden könnte.

Wie in Abb. 3 (siehe englischen Text) beschrieben, darf das Applikatorstäbchen nur in der Zone oberhalb der farbigen Markierung berührt werden. Nach der Probenahme am Patienten wird das Applikatorstäbchen in das ESwab-Reagenzglas mit dem Transportmedium eingeführt und dann an der rosa markierten Stelle abgebrochen. Das abgebrochene Stück wird in einem für medizinische Abfälle vorgesehenen Behälter entsorgt und der Verschluss auf das Reagenzglas geschraubt. Beim Aufschrauben wird das Applikatorstäbchen im Inneren des konischen Verschlusses fixiert.

Wenn das Reagenzglas im Labor geöffnet wird, bleibt das Applikatorstäbchen im Verschluss stecken und dient somit dem Laboranten als Griff bei der Entnahme des Applikators und der Durchführung der mikrobiologischen Analyse. Der Verschluss mit besonderer Trichterform ist dagegen nicht für Mini-Tupfer, Nasentupfer, Urethraltupfer und die Anwendung im Pädiatriebereich vorgesehen (481CE, 482CE, 483CE und 484CE), da sie sehr biegsam sind und nicht im Innern des Hohlraums fixiert werden können.

(Abb.4 siehe englischen Text)

Inokulation der ESwab-Probe im Labor

Für die Kultivierung der Bakterienprobe, die mit Hilfe des ESwab-Systems entnommen wurde, empfiehlt es sich, die für die jeweiligen Organismen optimalen Techniken und Nährböden zu verwenden. Zu den Nährböden und den Isolierungs- und Identifizierungs-Techniken für klinische Bakterienproben empfehlen wir die Konsultation der entsprechenden Handbücher und Anweisungen (17, 18, 21, 24, 25).

Bei der Untersuchung der durch Abstriche gewonnenen Proben auf aerobe und anaerobe anspruchsvolle Bakterien wie *Neisseria gonorrhoeae* werden normalerweise feste Agar-Nährböden in Petrischalen verwendet. Die Vorgehensweise bei der Inokulation der ESwab-Proben in Petrischalen wird im Folgenden beschrieben.

Wichtig: Bei der Arbeit mit klinischen Proben müssen Latexhandschuhe getragen und alle weiteren gegebenenichtsmaßnahmen getroffen werden. Es gilt die Stufe 2 der vom CDC festgelegten Normen für Biosicherheit (34, 35, 36, 37).

1. Schütteln Sie das ESwab-Reagenzglas mit dem Applikator 5 Sekunden lang kräftig, indem Sie es zwischen Daumen und Zeigefinger halten, oder verwenden Sie einen Vortexer, ebenfalls für 5 Sekunden, um die Probe vom Tupfer zu lösen und gleichmäßig im Medium zu verteilen.
2. Wenn im Rahmen der Analyse eine molekularbiologische Untersuchung vorgesehen ist, muss man einen Teil der Probe in ein steriles Reagenzglas einführen.
3. Schrauben Sie den Verschluss vom ESwab-Reagenzglas ab und entnehmen Sie den Applikator.
4. Streifen Sie den Tupfer für die primäre Inokulation auf der Oberfläche eines Bereiches der Petrischale ab.
5. Falls die Probe in eine zweite Petrischale eingebracht werden soll, stecken Sie den Applikator erneut für 2 Sekunden in das ESwab-Reagenzglas, um die Suspension aus Transportmedium und Patientenabstrich aufzusaugen, und wiederholen Sie Punkt 3.
6. Bevor Sie weitere Petrischalen inokulieren, wiederholen Sie den unter Punkt 4 beschriebenen Vorgang.

Während der oben beschriebenen Prozedur wird der ESwab-Applikator wie ein Inokulationsstab verwendet, um die Suspension für das primäre Inokulum auf die Petrischale zu übertragen (Abb. 5 siehe englischen Text). Alternativ kann der Laborant das Reagenzglas in einem Vortexer 5 Sekunden lang schütteln lassen und dann 100µl Volumen Suspension mittels einer Pipette mit steriler Spitze auf die einzelnen Petrischalen geben. Um das primäre Inokulum der Patientenprobe auf die Oberfläche der Petrischale zu streichen, befolgen Sie die Standardvorschriften für Labore (Abb.6 Siehe englischen Text).

Der Verschluss mit besonderer Trichterform ist dagegen nicht für Mini-Tupfer, Nasentupfer, Urethraltupfer und die Anwendung im Pädiatriebereich vorgesehen (481CE, 482CE, 483CE und 484CE), da sie sehr biegsam sind und nicht im Innern des Hohlraums fixiert werden können. Der Laborant kann das ESwab-Reagenzglas mit dem Entnahmestäbchen im Innern einer Vortex-Vorrichtung 5 Sekunden lang mischen und anschließend 100µl der Suspension in eine Petrischale mit einer Pipette oder sterilen Spitze geben.

Prozessieren Eswab mit dem automatischen System

Einige Eswab Produkt Kodex können mit automatischen System prozessiert werden. Bitte ziehen Sie in Betracht die Gebrauchsanweisung der Automation für Eswab Prozeß. Der Verschluss mit besonderer Trichterform ist dagegen nicht für Mini-Tupfer, Nasentupfer, Urethraltupfer und die Anwendung im Pädiatriebereich vorgesehen (481CE, 482CE, 483CE und 484CE), da sie sehr biegsam sind und sie nicht im Innern des Hohlraums fixiert werden können. Bevor daß, die Maschine mit Eswab geladen wird, der Wattetraeger muss aus dem Reagenzglas mit der Hilfe einer Pinzette herausgenommen werden, nachdem die Flüssigkeit aus der Spitze heraus geflossen ist.

Vorbereitung des Abstriches der ESwab-Proben mit Gramfärbung

Die Laboranalyse der klinischen Proben aus bestimmten Körperstellen des Patienten kann auch die mikroskopische Untersuchung von mit Gramfärbung gefärbten Präparaten (Direktabstrich) beinhalten. Diese Untersuchung kann dem Arzt wichtige Informationen über Infektionskrankheiten der Patienten liefern (26). In vielen Fällen hat die Gramfärbung das Erstellen einer Diagnose ermöglicht: zum Beispiel durch Abstriche an Endocervix oder Urethra bei Verdacht auf *Neisseria gonorrhoeae* oder durch Scheidenabstriche bei Verdacht auf bakterielle Vaginose (27, 28, 29, 30, 31, 39). Die Gramfärbung kann auch bei der Qualitätsprüfung der Probe oder der Wahl des Nährbodens hilfreich sein, vor allem bei einer gemischten Bakterienflora (32).

Für den Test mit der Gramfärbung können Sie auch, wie im Folgenden illustriert, einen Teil der Suspension der mit dem Copan ESwab-System transportierten Proben auf einen Objektträger geben (21, 32).

Eine mit dem Eswab Elutionsmedium transportierte Probe erscheint im flüssigen Zustand als homogene Suspension. Sie kann gleichmäßig verschmiert werden und ermöglicht somit eine eindeutige und einfache Abstrichbefundung.

Wichtig: Bei der Arbeit mit klinischen Proben müssen Latexhandschuhe getragen und alle weiteren gegebenenichtsmaßnahmen getroffen werden. Es gilt die Stufe 2 der vom CDC festgelegten Normen für Biosicherheit (34, 35, 36, 37).

1. Nehmen Sie einen sauberen Objektträger, legen Sie diesen auf eine ebene Oberfläche und bestimmen Sie mit Hilfe eines Instrumentes mit Diamant- oder Glasspitze die Position des Inokulums.
Hinweis: Es kann ein Objektträger mit einem vormarkierten 20 mm Ring verwendet werden.
2. Schütteln Sie das ESwab-Reagenzglas 5 Sekunden lang in einem Vortexer, um die Probe vom Tupfer zu lösen und gleichmäßig im flüssigen Amies-Transportmedium zu verteilen.
3. Schrauben Sie den Verschluss vom ESwab-Reagenzglas auf und benutzen Sie eine sterile Pipette, um 1-2 Tropfen des flüssigen Amies-Mediums auf die festgelegte Zone des Objektträgers zu geben.
Hinweis: Für den vormarkierten 20 mm Ringobjektträger genügen ungefähr 30 µl Flüssigkeit
4. Das Präparat auf dem Objektträger lufttrocknen lassen oder den Objektträger in einen elektrischen Objektträger-Wärmer bzw. Wärmeschrank geben, deren Temperatur nicht 42°C überschreiten darf.
5. Die Abstriche mit Methanol fixieren. Es wird die Fixierung mit Methanol empfohlen, weil sie die Lyse von roten Blutzellen verhindert, alle Wirtszellen vor Beschädigung schützt und einen saubereren Hintergrund ergibt (21, 26, 32).
6. Für den Test mit der Gramfärbung halten Sie sich an die Laborhandbücher. Beim Gebrauch von marktüblichen Gram-Reagenzien beachten Sie bitte die Hinweise des Herstellers.

Für weitere Informationen und Anleitungen bezüglich der Präparierung von Objektträgern für mikroskopische Untersuchungen oder bezüglich der Gramfärbung und der Interpretation und Beschreibung der mikroskopischen Untersuchung empfehlen wir die Konsultierung der Labor-Handbücher (20, 24, 25, 26, 32).

Verwendung der ESwab-Proben zur Durchführung der Molekularanalyse im Labor

Bei Proben, für die eine Untersuchung der Nukleinsäuren vorgesehen ist, wird empfohlen, sofort nach ihrer Ankunft im Labor eine Analyse durchzuführen. Sollte die Untersuchung zu einem späteren Zeitpunkt stattfinden, sind die Aufbewahrungsbedingungen unbedingt zu beachten.

Hinweis: Während der Handhabung der Proben müssen Latexhandschuhe und andere Schutzmittel im Allgemeinen verwendet werden. Dabei ist die Biosicherheitsstufe 2 gemäß CDC (34, 35, 36, 37) zu beachten. Bei der Anwendung der molekularbiologischen Untersuchungsmethoden müssen alle notwendigen Vorsichtsmaßnahmen zur Vorbeugung der Seuchenverbreitung getroffen werden. Die Trennung der Arbeitsplätze und ein eindirektionaler Arbeitsfluss sind grundlegende Voraussetzungen für die Vorbeugung der Seuchenverbreitung (42).

1. Das ESwab-Reagenzglas im Vortexer 10 Sek. lang schütteln, den Verschluss abschrauben, ihn zwischen dem Daumen und Zeigefinger fest halten, und durch eine Drehbewegung den größten Teil der Flüssigkeit aus der Spitze herausfließen lassen. Der Verschluss mit besonderer Trichterform ist dagegen nicht für Mini-Tupfer, Nasentupfer, Urethraltupfer und die Anwendung im Pädiatriebereich vorgesehen (481CE, 482CE, 483CE und 484CE), da sie sehr biegsam sind und nicht im Innern des Hohlraums fixiert werden können. In diesem Fall muss der Applikator, nachdem die Flüssigkeit aus der Spitze herausgeflossen ist, aus dem Reagenzglas mit Hilfe einer Pinzette herausgenommen werden.
2. Den Tupfer entfernen und die Probe nach dem üblichen Laborverfahren ins Reagenzglas einführen.
3. Das ESwab-System wurde mit folgenden Entnahmemethoden validiert: Silica Membran, magnetische Separation, organische und thermische Extraktion. Die Anwendung anderer Techniken ist nach vorheriger Validierung möglich.
4. Sollte die Entnahme nicht möglich sein, müssen die ESwab-Proben bei –20°C aufbewahrt werden.
5. Das ESwab-System wurde mit den Amplifikationsmethoden verifiziert.

Verwendung der ESwab-Proben zur Durchführung der Antigen-Schnelltests

1. Das ESwab Reagenzglas in einer Vortex-Vorrichtung 10 Sek. lang schütteln.
2. Die Probeflüssigkeit oder den Tupfer verwenden, um die Tests gemäß den im Set beiliegenden Spezifikationen sowie den üblichen Laborverfahren durchzuführen. Der Verschluss mit besonderer Trichterform ist dagegen nicht für Mini-Tupfer, Nasentupfer, Urethraltupfer und die Anwendung im Pädiatriebereich vorgesehen (481CE, 482CE, 483CE und 484CE), da sie sehr biegsam sind und nicht im Innern des Hohlraums fixiert werden können. Den Applikator aus dem Reagenzglas mit Hilfe einer Pinzette heraus nehmen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle ESwab-Systeme werden vor dem Verkauf einer Sterilitätsprüfung unterzogen, und sämtliche Applikatoren auf ihre Ungiftigkeit für Bakterien geprüft. Für das flüssige Amies-Transportmedium wird die Stabilität des PH-Wertes gemessen und die Sterilität mit Hilfe von Gramfärbung überprüft, um die im Dokument M40-A des Clinical Laboratory Standards Institute festgelegten Normen zu erfüllen (4).

Vor der endgültigen Genehmigung wird jede ESwab-Produktionseinheit mit Hilfe der Roll-Plate und der Swab Elution-Methode Qualitätskontrollen unterzogen. Diese weisen nach, dass das ESwab-System in der Lage ist, viele verschiedenen Arten von aeroben und anaeroben anspruchsvollen Bakterien sowohl bei Kühltemperatur (4-8°C) als auch bei Raumtemperatur (20-25°C) über einen bestimmten Zeitraum am Leben zu erhalten (4). Die Analyse der Lebendigkeit der Bakterien beinhaltet auch den Nachweis des Wachstums der Bakterien bei Kühltemperatur (4-8°C), die in einem bestimmten Zeitraum einer Wachstumssteigerung von ≤ 1 log entsprechen sollte. Jede Produktionspartie von ESwab wird auf eventuelle Enzymaktivitäten und Hemmstoffe untersucht, welche die Amplifikation der Nukleinsäuren beeinträchtigen könnte. Die DNA- und RNA-Enzyme beschädigen die Nukleinsäuren und verhindern somit ihre korrekte Amplifikation. Die Präsenz von DNA und RNA im Transportmedium und die Konservierung könnten fälschlicher Weise zu negativen Ergebnissen führen. Der Test besteht in der Zugabe einer bestimmten Dosis DNA und RNA (Kb-Skala) zum ESwab-Transportmedium und in der nachfolgenden Analyse der Integrität von DNA und RNA.

Die Verfahren für die Qualitätskontrolle der bakteriologischen Transportsysteme mit Hilfe der Roll-Plate und der Swab Elutions-Methode sind im Dokument M40-A des Clinical Laboratory Standards Institute und auch in anderen Veröffentlichungen illustriert (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Im Falle einer durch die Qualitätskontrolle nachgewiesenen Abweichung dürfen die Analyseergebnisse nicht verbreitet werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Bei der Arbeit mit klinischen Proben müssen Latexhandschuhe getragen und alle weiteren gegebenen Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden. Es gilt die Stufe 2 der vom CDC festgelegten Normen für Biosicherheit (34, 35, 36, 37).
2. Es liegen noch keine Erfahrungswerte hinsichtlich des Gebrauchs des ESwab-Systems zur Entnahme von Proben aus dem Urogenitalbereich von schwangeren Frauen vor.
3. Der Zustand, die Transportzeit und der Umfang der entnommenen Probe beeinflussen die Zuverlässigkeit des Untersuchungsergebnisses. Es wird empfohlen, die Anweisungen bezüglich der Probenahme zu befolgen (2, 3, 17, 18, 20, 21, 24).
4. Das ESwab-System wurde zum Transport von aeroben und anaeroben anspruchsvollen Bakterien, wie *Neisseria gonorrhoeae*, sowie für die Durchführung von Antigen-Schnelluntersuchung von Bakterien, Viren, Chlamydien und Nukleinsäuren. Das Produkt ist nicht zur Bewahrung der Vitalität von Viren und Chlamydien bestimmt.
5. Das ESwab-System ist zur Entnahme und zum Transport von aeroben, anaeroben und anspruchsvollen Bakterien wie *Neisseria gonorrhoeae* bestimmt. Es müssen die in den ESwab Verpackung mitgelieferten Reagenzgläser und Applikatoren benutzt werden. Der Gebrauch anderer Reagenzgläser und Applikatoren kann die Wirksamkeit des Produktes und das Untersuchungsergebnis negativ beeinflussen.
6. Das ESwab-System wurde mit den folgenden Extraktionsmethoden verifiziert: Silikamembran, magnetische Separation, organische und thermische Extraktion. Die Anwendung anderer Techniken ist nach vorheriger Verifizierung möglich.
7. Nach der DNA-Entnahme kann ein Teil des ESwab-Medium ohne die Reinigungsphase amplifiziert werden. In diesem Fall wird empfohlen, das ESwab-Medium im Verhältnis 1:5 zu verdünnen.

HINWEISE

-  Dieses Produkt ist nur für den Einmalgebrauch bestimmt; Eine Wiederverwendung kann zu einem Infektionsrisiko und/oder ungenauen Ergebnissen führen.
- Unbenutzte Tupfer nicht erneut sterilisieren.
- Nicht wieder zurück in die Verpackung stecken.
- Das System eignet sich nicht zur Entnahme und zum Transport von anderen Mikroorganismen, als den hier angegebenen (aerobe und anaerobe anspruchsvolle Bakterien).
- Wenden Sie das System nicht für andere als die hier angegebenen Zwecke an.
- Der Gebrauch des Produktes mit einem Schnelldiagnose-Set oder Diagnose-Instrumenten muss vom Anwender vorher geprüft werden.

- Benutzen Sie das Set nicht wenn es sichtbare Schäden aufweist (z.B. beschädigte Tupfer oder abgebrochenes Applikatorstäbchen).
- Verwenden Sie keine Gewalt oder Druck bei der Probenahme, da der Tupferstiel brechen könnte.
- Der Applikator gilt als medizinisches Instrument der Klasse IIa gemäß der Europäischen Richtlinie 93/42/CEE für Medizinische Instrumente zur Kurzzeitigen Inneren Chirurgischen Anwendung. Diese Klassifizierung bedeutet, dass der Applikator für die Untersuchung von Oberflächen und Öffnungen des menschlichen Körpers (z.B. Nase, Rachen, Scheide und tiefe Wunden) geeignet ist.
- Das Transportmedium nicht verzehren.
- Befolgen Sie aufmerksam die Gebrauchsanleitung. Der Hersteller lehnt jegliche Verantwortung für Schäden ab, die durch vom ursprünglichen Zweck abweichende Gebrauch des Produktes oder durch nicht qualifizierte oder nicht autorisierte Personen verursacht werden.
- Veränderungen am Produkt dürfen nur durch entsprechend geschultes Personal vorgenommen werden.
- Der Verschluss mit besonderer Trichterform ist dagegen nicht für Mini-Tupfer, Nasentupfer, Urethraltupfer und die Anwendung im Pädiatriebereich vorgesehen (481CE, 482CE, 483CE und 484CE), da sie sehr biegsam sind und nicht im Innern des Hohlraums fixiert werden können.
- Alle Proben enthalten infektiöse Mikroorganismen, weshalb sie mit äußerster Vorsicht gehandhabt werden sollten. Entsorgen Sie Reagenzgläser und Applikatoren nach dem Gebrauch entsprechend den Vorschriften für infektiöse Abfälle. Es gilt die Stufe 2 der vom CDC festgelegten Normen für Biosicherheit (34, 35, 36, 37).
- Benutzen Sie das ESwab-Transportmedium nicht vor der Entnahme der Probe zum Befeuchten des Applikators oder des Entnahmeortes.

UNTERSUCHUNGSERGEBNIS

Die Zuverlässigkeit des Untersuchungsergebnisses hängt stark von der korrekten Anwendung des Systems während Probenahme, Transport und Untersuchung im Labor ab.

LEISTUNGSFÄHIGKEIT

In einem normalen klinischen Labor ist die meist angewandte Methode für die Inokulation der Proben auf dem Nährboden einer Petrischale die Roll-Plate-Methode. Die Grenze dieser Methode (4) zum Nachweis der Lebendigkeit der Bakterien besteht darin, dass die Methode nicht quantitativ, sondern höchstens semiquantitativ ist. Andererseits entsprechen andere quantitative Methoden wie die Swab Elutions-Methode (4) nicht dem in den meisten Labors gebräuchlichen Standard-Protokoll. Während die Swab Elutions-Methode eine quantitative Messung der Wirksamkeit von Systemen zur Lebenderhaltung von Bakterien ermöglicht, untersucht man mit der Roll-Plate-Technik einige mechanische Variablen bezüglich des direkten Anwendung der Proben im Labor, was die Abgabe der Probe auf der Petrischale beeinflussen kann. Aus diesem Grund wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt um die Leistungsfähigkeit des ESwab-Systems zu testen.

Die Leistungsfähigkeits-Teste zum Nachweis der Lebendigkeit der Bakterien basieren auf Methoden zur Qualitätskontrolle, die im Dokument M40-A des Clinical Laboratory Standards Institute beschrieben werden (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Es wurden die im Dokument M40-A für die Qualitätskontrolle von Transportsystem für klinische Proben vorgesehenen Testorganismen (verschieden Arten aerober, anaerober und anspruchsvoller Bakterien) verwendet. Außerdem wurden Tests mit weiteren Organismen durchgeführt, die nicht im Dokument M40-A vorgesehen sind, um zusätzliche Erkenntnisse über die Lebenderhaltung bestimmter Bakterien zu gewinnen.

Bezüglich der Vitalität der Bakterien wurden Studien mit dem Copan ESwab-System in zwei verschiedenen Temperatur-Bereichen durchgeführt; bei 4–8°C (Kühltemperatur) und bei 20–25°C (Raumtemperatur). Die in jedem Transport-System enthaltenen Applikatoren wurden dreimal mit 100µl Suspension konzentrierter Organismen inokuliert. Daraufhin wurden sie in die entsprechenden Reagenzgläser eingeführt und dort 0, 24 und 48 Stunden lang belassen. Nach jeweils 0, 24 und 48 Stunden wurden die Applikatoren mit der Roll-Plate oder der Swab-Elutions-Methode untersucht.

Mit dem Entnahme- und Transport ESwab System ist es möglich, das DNA, RNA und die Antigene von Bakterien, Viren und Chlamydien 5 Tage lang aufzubewahren, wenn die Konservierung in einer Umgebungstemperatur von 20 – 25°C erfolgt. Bei einer Temperatur von 4°C können sie bis zu 7 Tagen aufbewahrt werden, während bei -20°C die Aufbewahrungszeit 6 Monate betragen kann. ESwab ist nicht mit den DNA- und RNA-Enzymen kontaminiert, die den Amplifikationsprozess beeinflussen können.

Die untersuchten Organismen wurden in die 3 folgenden Gruppen unterteilt:

1. Aerobier und Anaerobier (fakultativ):

Pseudomonas aeruginosa ATCC® BAA-427, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 6305, *Haemophilus influenzae* ATCC® 10211.

2. Anaerobe:

Bacteroides fragilis ATCC® 25285, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC® 25586, *Propionibacterium acnes* ATCC® 6919, *Prevotella melaninogenica* ATCC® 25845.

3. Anspruchsvolle Bakterien:

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 43069.

Weitere getestete Organismen:

Enterococcus faecalis (Vancomycin resistant *Enterococcus* VRE) ATCC® 51299, *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA) ATCC® 43300, *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* di Gruppo B) ATCC® 13813, *Clostridium perfringens* ATCC® 13124, *Clostridium sporogenes* ATCC® 3584, *Fusobacterium necrophorum* ATCC® 25286, *Peptococcus magnus* ATCC® 29328.

HINWEIS

Für eventuelle Reklamationen bezüglich der Funktionsfähigkeit des Produktes und der Vitalität werden die Bakterien gemäß dem Dokument M40-A des Clinical Laboratory Standards Institute und ihres Wachstums in Sauerstoffatmosphäre unterteilt:

1. Aerobe und fakultativ Anaerobe

Aerobe Bakterien brauchen Luft oder freien Sauerstoff, um zu überleben. Fakultativ anaerobe Bakterien können mit oder ohne Sauerstoff überleben. Viele aerobe Bakterien sind fakultativ anaerobe, d. h. sie können ohne Sauerstoff überleben und wachsen. Deshalb beinhaltet die Gruppe der aeroben Bakterien auch die Beschreibung der fakultativ anaeroben Bakterien.

2. Anaerobe

Anaerobe Bakterien brauchen weder Luft noch Sauerstoff zum Überleben. Diese Gruppe umfasst strikt anaerobe Bakterien, die nur in Abwesenheit von Sauerstoff überleben können.

3. Anspruchsvolle Bakterien

Anspruchsvolle Bakterien brauchen komplexe oder genau definierte Wachstumsbedingungen und der bedeutendste Vertreter dieser Gruppe ist *Neisseria gonorrhoeae*.

Entsprechend dem Dokument M40-A des Clinical Laboratory Standards Institute werden die Leistungsfähigkeitstests für alle Organismen mit Ausnahme von *Neisseria gonorrhoeae* nach 48 Stunden durchgeführt und mit den Zulassungskriterien verglichen. Für *Neisseria gonorrhoeae* wird der Performance-Test nach 24 Stunden durchgeführt. Bei der Anwendung beider Methoden (Roll-Plate und Swab Elution) hat das Copan-ESwab-System ein akzeptables Ergebnis für alle getesteten Organismen erzielt, und zwar sowohl bei Kühltemperatur (4–8°C) als auch bei Raumtemperatur (20–25°C). Bei der Roll-Plate-Methode muss für ein akzeptables Ergebnis die Menge der gewonnenen Bakterien nach der Konservierungszeit bei ≥ 5 CFU liegen, wobei die Verdünnung zum Zeitpunkt Null zu einer Zählung von ca. 300 CFU in der Petrischale geführt hat. Bei der Swab-Elution-Methode darf für ein akzeptables Ergebnis die CFU-Abnahme zwischen dem Zeitpunkt Null und dem Ende der Konservierungszeit nicht größer als $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) sein.

Die Leistungsfähigkeitstests umfassen außerdem eine Prüfung auf Bakterienwachstum bei Kühltemperatur (4 – 8°C).

Bei der Swab-Elution-Methode wird die Prüfung nach einer Konservierungszeit von 48 Stunden an allen getesteten Bakterien durchgeführt (für *Neisseria gonorrhoeae* nach 24 Stunden). Das Wachstum gilt als nachgewiesen, wenn zwischen dem Zeitpunkt Null und dem Ende der Konservierungszeit ein CFU-Wachstum von mehr als $1 \log_{10}$ stattfindet. Bei der Roll-Plate-Methode wird eine gesonderte Prüfung vorgenommen, bei der den Proben 100µl mit 10^2 CFU *Pseudomonas aeruginosa* zugesetzt werden. In diesem Fall gilt das Wachstum als nachgewiesen, wenn zwischen dem Zeitpunkt Null und dem Ende der Konservierungszeit ein CFU-Wachstum von mehr als $1 \log_{10}$ stattfindet. Das Entnahme- und Transportsystem Copan ESwab hat bei keiner der beiden Methoden Anzeichen von Wachstum gemäß der im Dokument M40-4 vom Clinical Laboratory Standards Institute festgelegten Standards gezeigt.

Sistema toma de muestras y transporte Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab)

(ES) USO

El sistema de recolección y transporte Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) se utiliza para la el transporte y toma de muestras clínicas que contienen bacterias aerobias, anaerobias, organismos fastidiosos y clamidias.

En el laboratorio el hisopo Eswab puede ser analizado utilizandose procedimientos standard como:

- El cultivo bacteriano de organismos aerobios , anaerobios y fastidiosos
- la búsqueda de antígenos y de ácidos nucleicos de bacterias, virus y clamidia.

SÍNTESIS Y PRINCIPIOS

La recolección y el transporte seguro de muestras microbiológicas es uno de los procedimientos de rutina en la diagnosis de las infecciones bacteriológicas y se puede realizar con el sistema Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab). El terreno de transporte del sistema Copan ESwab está constituido por el medio de cultivo líquido Amies modificado capaz de mantener vivas, durante el transporte al laboratorio, a una vasta gama de organismos entre los cuales bacterias aerobias, anaerobias y fastidiosos de notable importancia clínica como la *Neisseria gonorrhoeae*.

Al no poseer encimas ni inhibidores que podrían interferir en los testes de amplificación molecular, el medio de transporte ESwab también se puede utilizar para la estabilización de los antígenos virales, bacterianos y de la Clamidia y de los ácidos nucleicos durante el tránsito al laboratorio.

El terreno de transporte ESwab es un medio de mantenimiento constituido por un tampón de fosfato inorgánico, sales de calcio y magnesio y cloruro de sodio en un ambiente reducido por la presencia de tioglicolato de sodio (1).

Copan ESwab incluye un envase estéril que contiene: una probeta de polipropileno con fundo cónico, etiqueta y tapadera con tornillo fondo cónico llenada con 1 ml de terreno de transporte líquido Amies y un sobrecito con un hisopo de recolección con punta recubierta con una fibra blanda de nylon.

Hay tres tipos de empaques: el primero contiene un hisopo estándar con punta de fibras de nylon reunidas para la obtención de muestras en la garganta, vaginal, heridas, recto y heces, el segundo contiene un hisopo con punta fina para la obtención de muestras en zonas estrechas o poco accesibles como los ojos, oídos, nariz, nasofaringe, garganta y aparato urogenital, mientras el tercero contiene un hisopo nasal con punta de fibra de nylon reunida para obtener muestras de la nasofaringe o efectuar muestreos pediátricos. Además hay otros dos hisopos especiales para obtener muestras de la uretra y realizar muestreos pediátricos, se idearon especialmente para mejorar la eficiencia del dispositivo y para reducir al mínimo los problemas ocasionados a los pacientes. Se aconseja introducir el tampón en la probeta ESwab apenas se haya realizado la recolección. Además, para mantener la vitalidad de los organismos en óptimos niveles, se aconseja el transporte inmediato al laboratorio de las muestras recogidas con el sistema ESwab, es preferible que se realice antes de las 2 horas de haber efectuado la recolección (2, 3, 4). Si la entrega o el análisis se retrasaran, las muestras se tendrán que congelar entre 4 y 8 °C o conservar a temperatura ambiente (20 - 25 °C) y analizar dentro de 48 horas, con excepción de los cultivos de *Neisseria gonorrhoeae* para los cuales se requiere el análisis dentro de las 24 horas. Estudios científicos independientes realizados en los tampones de transporte demostraron que para algunas bacterias la vitalidad es superior si las muestras se conservan a temperaturas de refrigeración.

Para los tampones que contienen muestras de antígenos bacterianos, virales y de la Clamidia y de los ácidos nucleicos se aconseja realizar el análisis dentro de 5 días si se conservan a una temperatura ambiente controlada (20 – 25°C), dentro de 7 días si se conservan a 4°C y dentro de 6 meses cuando la conservación es de -20°C.

Para los análisis de muestras que se utilizarán en cultivos bacterianos o en investigaciones de antígenos /ácidos nucleicos, será necesario respetar las condiciones de transporte y conservación arriba indicadas.

REACTIVOS

Copan ESwab incorpora un medio de transporte líquido Amies modificado. Ver texto en inglés.

NOTA TECNICA

El medio de transporte Amies liquido en la probeta del Eswab puede aparentar un poco turbio. Esto es natural y e debido a la presencia de sales en la composicion del medio

PRECAUCIONES

- Seguir las precauciones aprobadas sobre los biopeligros además de las técnicas asépticas. El uso sólo lo tiene que realizar el personal adecuadamente capacitado y cualificado.
- Todas las muestras y los materiales empleados para el análisis del producto se tienen que considerar potencialmente infectados y por lo tanto se tienen que manejar de modo tal que se evite el riesgo de infección del personal de laboratorio. Después del uso será necesario esterilizar todos los desechos biopeligrosos incluidas las muestras, contenedores y terrenos de transporte. Respetar las otras disposiciones del Nivel 2 de 7 establecido por el CDC (34, 35, 36, 37).
- Respetar rigurosamente las instrucciones.

CONSERVACIÓN

Este producto está listo para el uso y no necesita ulteriores preparaciones. El mismo se tiene que conservar en el embalaje original entre 5 – 25 °C hasta el momento de la utilización. No recalentar. No incubar o congelar antes del uso. Una conservación inadecuada disminuye la eficacia del producto. No utilizar después de la fecha de vencimiento indicada sobre el envase externo, sobre cada uno de los empaques y sobre la etiqueta de la probeta de transporte.

DETERIORO DEL PRODUCTO

No utilizar Copan ESwab si (1) el producto presenta daños visibles o está contaminado, (2) el producto presenta pérdidas visibles, (3) se superó la fecha de vencimiento, (4) el envase del hisopo está abierto o bien (5) posee otras evidencias de deterioro.

TOMA DE MUESTRAS, CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE

La recolección y el manejo de las muestras extraídas para los análisis bacteriológicos que prevén el aislamiento de las bacterias aerobias, anaerobias y fastidiosas como la *Nesseria gonorrhoeae* se tienen que realizar según los manuales y las guías publicadas (2, 3, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Para mantener la máxima vitalidad de los organismos además de la integridad de los antígenos y de los ácidos nucleicos se aconseja el inmediato transporte al laboratorio de las muestras recogidas con el sistema ESwab, se aconseja dentro de las 2 horas de la recolección (2, 3, 4). Si la entrega o el análisis se atrasaran, las muestras se tendrán que refrigerar entre 4 – 8 °C o conservar a temperatura ambiente controlada (20 – 25 °C) y analizar dentro de las 48 horas, con excepción de los cultivos de *Neisseria gonorrhoeae* para los cuales se requiere el análisis dentro de las 24 horas. Para los hisopos que contienen muestras de antígenos o ácidos nucleicos bacterianos, virales y de la Clamidia se aconseja realizar el análisis dentro de 5 días si se conservan a una temperatura ambiente controlada (20 – 25°C), dentro de 7 días si se conservan a 4°C y dentro de 6 meses cuando la conservación es de -20°C.

Para los análisis de muestras que se utilizarán en cultivos bacterianos o en investigaciones de antígenos / ácidos nucleicos, será necesario respetar las condiciones de transporte y conservación arriba indicadas.

Para el transporte y el manipulación de las muestras se requiere el total respeto de los reglamentos nacionales y federales (19, 22, 23). El transporte de muestras entre institutos médicos tiene que respetar los reglamentos internos de dichos institutos. Se aconseja analizar todas las muestras tan pronto hayan llegado al laboratorio.

CONTENIDO

Copan ESwab contiene cincuenta (50) unidades mientras cada cartón contiene 10 x 50. Cada unidad incluye un envase estéril que contiene: una probeta de polipropileno con tapadera con tornillo etiquetada y fondo cónico llenada con 1 ml de medio de transporte líquido Amies y un hisopo de recolección con punta recubierta con una fibra blanda de nylon (Fig. 1 - Ver texto en inglés). Hay tres tipos de empaques: el primero contiene un hisopo estándar con punta de fibra de nylon reunidas para la obtención de muestras en la garganta, vaginal, heridas, recto y heces , el segundo contiene un hisopo con punta fina para la obtención de muestras en zonas estrechas o poco accesibles como los ojos, oído , nariz, nasofaringe, garganta y aparato urogenital, mientras el tercero contiene un hisopo pernasal con punta de fibra de nylon reunida para obtener muestras de la nasofaringe o para uso pediátrico.

Los distintos tipos de hisopos permiten la recolección de muestras en distintas zonas del cuerpo. Para informaciones más específicas sobre los productos consultar la descripción detallada del componente.

En los hisopos del ESwab está previsto un punto de rotura, indicado mediante una línea coloreada, para facilitar la rotura del mismo en la probeta que contiene el campo de transporte después de la extracción.

La particular forma interna de las tapas de las probetas, con forma de embudo, también permite el bloqueo del vástago hisopo después de la rotura. Al enroscar la tapa sobre la probeta, el extremo del vástago se desplaza en la cavidad de la tapa.

Cuando se abre la probeta en el laboratorio de análisis, el hisopo permanece unido a la tapa y el operador podrá quitar fácilmente el tampón de la probeta para realizar los análisis microbiológicos empleando la tapa como manija. El tampón de bloqueo no está previsto para los tampones minipunta, pernasales, uretrales y pediátricos (481CE, 482CE, 483CE y 484CE) porque, siendo muy flexibles, no se podrían bloquear dentro de la cavidad de la tapa.

Cuando se abre la probeta en el laboratorio de análisis, el hisopo queda junto con la tapa y el operador podrá quitar fácilmente el hisopo de la probeta y efectuar los análisis microbiológicos utilizando la tapa como manija.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO INCLUIDOS

ESwab no incluye los materiales para el aislamiento y el cultivo de las bacterias aerobias, anaerobias y fastidiosas como placas de petri o probetas de cultivo, sistemas de incubación, jarra de micro-aerofilia e anaerobios. Para los protocolos sobre las técnicas de cultivo e identificación de las bacterias aerobias, anaerobias y fastidiosas de las muestras clínicas se recomienda consultar los manuales de laboratorio (17, 18, 21, 22).

INSTRUCCIONES PARA EL USO

El sistema de recolección y transporte Copan ESwab se dispone en las versiones indicadas en la siguiente tabla.

N° catálogo	Copan ESwab – descripción de los productos	Embalaje	Lugares de muestreo	de Tapón de bloqueo
480CE 490CE.A	Empaque estéril de muestreo único que contiene: - Probeta de polipropileno con tapa con tornillo rosa con 1ml de terreno de transporte líquido Amies. - Hisopo de dimensiones estándar con punta blanda de fibra de nylon.	Caja con 50 unidades 10x50 unidades para cartón	Garganta, vaginal y heridas Reto y heces	SI
481CE 491CE.A	Empaque estéril de muestreo único que contiene: - Probeta de polipropileno con tapa naranja con 1ml de terreno de transporte líquido Amies. - Hisopo con minipunta de fibra blanda de nylon.	Caja con 50 unidades 10x50 unidades para cartón	Ojos, nariz, nasofaringe, garganta, aparato urinario y genital, uso pediátrico	NO
482CE	Empaque estéril para muestreo único contiene: - Probeta de polipropileno con tapa azul con 1ml del medio de transporte líquido Amies. - Tampón pernasal con punta de fibra de nylon reunida.	Caja con 50 unidades 10x50 unidades para cartón	nasofaringe, uso pediátrico	NO
483CE	Empaque estéril para muestreo único contiene: - Probeta de polipropileno con tapa naranja con 1ml del medio de transporte líquido Amies. - Tampón uretral con punta de fibra de nylon reunida.	Caja con 50 unidades 10x50 unidades para cartón	Aparato urogenital	NO
484CE	Empaque estéril para muestreo único contiene: - Probeta de polipropileno con tapa azul con 1ml del medio de transporte líquido Amies. - Tampón pediátrico con punta de fibra de nylon reunida.	Caja con 50 unidades 10x50 unidades para cartón	Uso pediátrico	NO
493CE02	Dispositivo estéril de muestreo desechable, que contiene: - Probeta de polipropileno con tapón de tornillo rosado llenada con 1 ml de terreno de transporte líquido Amies. - Un tampón rosado de dimensiones estándar con punta algodónada de nylon y un tampón blanco de dimensiones estándar con punta algodónada de nylon.	Caja de 50 unidades 10x50 unidades por cartón	Nariz, garganta, perineo	SI
493CE03	Dispositivo estéril de muestreo desechable, que contiene: - Probeta de polipropileno con tapón de tornillo rosado llenada con 1 ml de terreno de transporte líquido Amies. - dos tampones rosados de dimensiones estándar con punta algodónada de nylon y un tampón blanco de dimensiones estándar con punta algodónada de nylon	Caja de 50 unidades 10x50 unidades por cartón	Nariz, garganta, perineo	SI

Para verificar la disponibilidad de ulteriores versiones del producto será necesario consultar nuestro sitio web www.copaninnovation.com

¥ La prueba de desempeño con el sistema Copan ESwab se realizó utilizando cepas de laboratorio puestas en el hisopo según los protocolos de ensayo descritos en la norma Laboratory Standards Institute M40-A (4). No se utilizaron muestras humanas.

Recolección de las muestras

La recolección de las muestras del paciente representa una fase muy delicada, de la misma depende el éxito del aislamiento y de la identificación de los organismos infectivos. Para obtener instrucciones más detalladas sobre los procedimientos de recolección consultar los manuales publicados (2, 17, 18, 20, 21, 22).

1. Abrir el empaque Eswab, quitar la probeta y el hisopo.
2. Quitar el hisopo del empaque y recolectar la muestra del paciente.
3. Desenroscar la tapa en modo aséptico y extraerla de la probeta.
4. Introducir el hisopo en la probeta y romper la barra en el punto indicado por la línea coloreada. Eliminar la parte rota de la barra en un adecuado contenedor para desechos médicos.
5. Volver a roscar la tapa sobre la probeta cerrándola con fuerza.
6. Escribir los datos del paciente sobre la etiqueta de la probeta o aplicar una etiqueta de identificación del paciente. Enviar la muestra al laboratorio de análisis.

Para los sistemas de recolección Eswab MRSA, códigos 493:

1. Abrir el sobre que contiene el tubo de transporte y los tampones de toma.
2. **Utilizar el tampón ROSADO para recoger la primera muestra** (por ejemplo: garganta, perineo, nariz o cualquier otro punto de toma) y luego abrir la probeta.
3. Introducir el tampón usado para la toma en el terreno de transporte Liquid Amies, hasta alcanzar el fondo del tubo. **Sumergir y agitar el tampón durante 5 segundos.**
4. **Sacar el tampón** más allá del nivel del líquido, y exprimirlo contra las paredes del tubo 5 veces, para favorecer la liberación de la muestra desde las fibras del tampón. Sacar el tampón y volver a tapar la probeta.
5. Echar el tampón rosado en el contenedor para Biohazard.
6. **Utilizar el tampón BLANCO para recoger la última muestra** (por ejemplo: garganta, perineo, nariz o cualquier otro punto de toma) y luego abrir la probeta.
7. **Introducir el tampón en la probeta y quebrarlo en el interior de la misma, en el punto de fractura.**
8. **Volver a cerrar el tubo con en el interior el tampón BLANCO; copiar los datos del paciente en el tubo y enviarlo al laboratorio para el análisis.**

Repetir los puntos desde el 2 hasta el 5, si el sistema de recolección Eswab MRSA **está constituido por 2 tampones rosados, utilizar el segundo tampón rosado para recoger la segunda muestra;** por ejemplo: garganta, perineo, nariz o cualquier otro punto de toma).

De lo contrario, proceder al punto 7.

Para la recolección y el desplazamiento de muestras microbiológicas se recomienda utilizar adecuados medios de protección como guantes estériles y gafas para protegerse contra eventuales chorros o aerosol durante la rotura de la barra en la probeta.

El operador no puede tocar la zona que está por debajo de la línea roja impresa sobre el hisopo, o sea, la zona comprendida entre esta línea y la punta del hisopo (Fig 3 - Ver texto en inglés), para no contaminar la barra y el cultivo y, por lo tanto, evitar de invalidar los resultados del análisis.

La empuñadura se tiene que realizar por encima de la línea de rotura como se indica en la Fig. 3 (Ver texto en inglés). Después de la extracción de la muestra del paciente el tampón se tiene que romper en el punto indicado por la línea roja dentro de la probeta ESwab que contiene el terreno de transporte; después el operador eliminará la parte rota de la barra en un contenedor para desechos médicos y le colocará la tapa en la probeta. Al roscar en la probeta el mismo se moverá en la cavidad cónica interna de la tapa (Fig. 4 - Ver texto en inglés) bloqueándolo definitivamente. Cuando la probeta se abrirá en el laboratorio el hisopo permanecerá acoplado con la tapa. Esto le permite al operador quitar el hisopo con facilidad y efectuar los análisis microbiológicos necesarios utilizando la tapa como empuñadura. El tampón de bloqueo no está previsto para los tampones minipunta, pernales, uretrales y pediátricos (481CE, 482CE, 483CE y 484CE) porque, siendo muy flexibles, no se podrían bloquear dentro de la cavidad de la tapa.

Inoculación de los cultivos de muestras ESwab en laboratorio

Para el cultivo bacteriológico de las muestras ESwab se aconseja utilizar adecuados medios y técnicas según las muestras y los organismos. Para los medios y las técnicas de aislamiento e identificación de las bacterias de muestras clínicas consultar los manuales y las guías publicadas (17, 18, 21, 24, 25).

El análisis de los cultivos de muestras extraídas mediante hisopo para efectuar la búsqueda de bacterias aerobias, anaerobias y fastidiosas como la *Neisseria gonorrhoeae* generalmente requieren el uso de un medio sólido en placas de Petri. El procedimiento de inoculación de las muestras ESwab en placas de Petri se indica a continuación.

Nota: Para el desplazamiento de las muestras clínicas utilizar guantes de látex y otros medios de protección general. Respetar el nivel de bioseguridad 2 establecido por el CDC (34, 35, 36, 37).

1. Sacudir con fuerza la probeta ESwab que contiene el hisopo teniéndola entre el pulgar y el índice durante 5 segundos o bien agitarla en un mezclador a ciclón durante 5 segundos para separar la muestra del hisopo y dispersarla en el medio líquido en modo uniforme.
2. Si el análisis prevé tests moleculares será necesario transferir una parte de la muestra en una probeta estéril.
3. Desenroscar la tapa de la probeta ESwab y quitar el hisopo
4. Frotar la punta del hisopo sobre la superficie de un sector de la placa de cultivo para el inoculante primario.
5. Si fuese necesario introducir la muestra en una segunda placa de cultivo, colocar el hisopo ESwab en la probeta durante 2 segundos para absorber la suspensión formada por el medio de transporte y la muestra del paciente y repetir el punto N° 3.
6. Repetir la operación descrita en el punto 4 antes de inocular ulteriores placas.

En el procedimiento descrito arriba el hisopo ESwab se utiliza como una varilla para inoculación para transferir la suspensión sobre la placa de cultivo creando el inoculante primario (Fig. 5 - Ver texto en inglés). Como alternativa el operador puede agitar la probeta con el hisopo en un mezclador a ciclón durante 5 segundos y después transferir 100µl volumen de suspensión sobre cada una de las placas de cultivo mediante una pipeta volumétrica con punta estéril. Para arrastrar el inoculante primario de la muestra del paciente sobre la superficie de la placa seguir los procedimientos estándar de laboratorio (Fig. 6 - Ver texto en inglés). El tampón de bloqueo no está previsto para los tampones minipunta, pernales, uretrales y pediátricos (481CE, 482CE, 483CE y 484CE) porque, siendo muy flexibles, no se podrían bloquear dentro de la cavidad de la tapa. El operador puede mezclar la probeta ESwab conteniendo el hisopo durante 5 segundos con la ayuda de un mezclador y después transferir 100µl en volumen de la suspensión en cada placa de cultivo mediante una pipeta volumétrica o puntas estériles.

Como procesar ESwab con un sistema automatizado

Algunas torundas ESwab pueden ser procesadas con sistemas automatizados. Se ruega leer atentamente las instrucciones del fabricante del autómatas para procesar dichas ESwab. Debido a la flexibilidad del tallo de las torundas minitip, pernales, uretral y pediátrica (481CE, 482CE, 483CE y 484CE), usar pinzas para extraer el aplicador del tubo antes de introducirlo en la máquina, pues podría interferir en el normal funcionamiento del autómatas.

Preparación del arrastre con coloración de Gram de las muestras ESwab

El análisis de laboratorio de las muestras clínicas recogidas en determinados puntos del paciente, puede incluir el examen microscópico de preparaciones teñidas (extensión directa) utilizando el procedimiento de coloración de Gram; este proceso proporciona información relevante al médico que trata pacientes aquejados de enfermedades infectivas (26). En muchos casos una tinción de Gram se ha convertido en el soporte válido para un correcto diagnóstico; por ejemplo: un cultivo endocervical o uretral para detectar la infección *Neisseria gonorrhoeae* o bien un cultivo vaginal para diagnosticar la vaginosis bacteriana (27, 28, 29, 30, 31, 39). La tinción de Gram, además, puede ser útil para evaluar la calidad de la muestra y contribuir en la elección del medio de cultivo, especialmente, ante la presencia de una flora bacteriana mixta (32).

La muestra transportada en el líquido de elución del ESwab, representa una suspensión homogénea en fase líquida. Puede ser uniformemente distribuida sobre un portaobjetos permitiendo una fácil y clara lectura del mismo.

Las muestras transportadas con el sistema Copan ESwab pueden ser transferidas a un portaobjetos de microscopio para la prueba de tinción de Gram, según cuanto se ilustra abajo, tomando una parte de la suspensión, previamente agitada, del cultivo (21, 32).

Nota: para la manipulación de muestras clínicas, utilizar guantes de látex y otros medios de protección general. Respetar el nivel de bioseguridad 2 establecido por el CDC (34, 35, 36, 37).

1. Tomar un portaobjetos limpio, colocarlo sobre una superficie plana y delimitar una zona utilizando un instrumento con punta de diamante o vidrio para identificar la posición del inóculo.

Nota: puede ser utilizado un portaobjetos con una zona circular premarcada de 20 mm.

2. Introducir la probeta ESwab en un agitador vortical y agitarla durante 5 segundos para diseminar uniformemente la muestra en el medio de transporte Amies líquido.

3. Quitar el tapón de la probeta ESwab y, utilizando una pipeta estéril, transferir 1-2 gotas de medio Amies líquido a la zona marcada del portaobjetos.

Nota: la cantidad adecuada de líquido para un portaobjetos con una zona circular premarcada de 20 mm, sería aproximadamente 30µl.

4. Dejar secar la muestra a temperatura ambiente o en un horno/incubadora para portaobjetos a una temperatura que no exceda los 42 °C.

5. Fijar la muestra con metanol. Se recomienda la fijación con metanol ya que previene la lisis de los glóbulos rojos, evita daños a las células huésped y facilita la obtención de un fondo más claro (21, 26, 32).

6. Para la prueba de coloración Gram será necesario respetar los manuales de laboratorio. Si se utilizan reactivos Gram disponibles en el mercado, se recomienda seguir las instrucciones del fabricante.

Para ulterior información o instrucciones sobre la preparación de portaobjetos para análisis microscópico, la tinción Gram y la interpretación y descripción de los análisis microscópicos, se aconseja consultar los manuales de laboratorio (20, 24, 25, 26, 32).

Utilización de las muestras ESwab para efectuar los análisis moleculares en laboratorio

Para las muestras en las cuales está prevista la búsqueda de ácidos nucleicos, se aconseja efectuar el análisis inmediato después de la llegada en el laboratorio. En caso de un atraso, tener en cuenta las respectivas condiciones de conservación.

Nota: para el desplazamiento de las muestras clínicas será necesario utilizar guantes de látex y otros medios de protección general. Respetar el nivel de bioseguridad 2 establecido por el CDC (34, 35, 36, 37).

Durante el empleo de los métodos moleculares será necesario aplicar las precauciones necesarias para evitar la difusión de la contaminación. La separación de los espacios de trabajo y un flujo de trabajo unidireccional son fundamentales para prevenir la contaminación de a muestra (42).

1. Agitar la probeta ESwab en un mezclador vortex durante 10 segundos, desenroscar la tapa y, teniéndola entre el pulgar y el índice, hacerla girar para que salga la mayor parte del fluido desde la punta. El tampón de bloqueo no está previsto para los tampones minipunta, pernales, uretrales y pediátricos (481CE,

- 482CE,483CE y 484CE) porque, siendo muy flexibles, no se podrían bloquear dentro de la cavidad de la tapa. En este caso, después de haber dejado salir el fluido desde la punta, extraer el hisopo de la probeta utilizando un par de pinzas.
2. Eliminar el tampón y transferir la muestra a una probeta de extracción respetando los procedimientos normales de laboratorio.
 3. El sistema Eswab se convalidó para los siguientes métodos de extracción: membrana de ge de silicio, partículas magnéticas, extracción orgánica y térmica. También se admite el uso de otras técnicas con una previa validación.
 4. Si no fuese posible efectuar la extracción, será necesario conservar las muestras Eswab a -20 °C.
 5. El sistema Eswab se convalidó con los métodos de amplificación.

Utilización de muestras Eswab para la realización de pruebas rápidas para antígenos

1. Agitar la probeta Eswab en un mezclador vortex durante 10 segundos.
2. Utilizar el fluido de muestra o bien el hisopo y realizar la prueba según las respectivas especificaciones en dotación con el kit y de acuerdo a los procedimientos estándar de laboratorio. El tampón de bloqueo no está previsto para los tampones minipunta , permasales, uretrales y pediátricos (481CE, 482CE,483CE y 484CE) porque, siendo muy flexibles, no se podrían bloquear dentro de la cavidad de la tapa. Extraer el hisopo de la probeta utilizando un par de pinzas.

CONTROL DE LA CALIDAD

Todos los lotes del sistema Eswab se ensayan para verificar la esterilidad, mientras que todos los lotes de los hisopos se controlan para comprobar que no resulten tóxicos para las bacterias. Para el medio de transporte líquido Amies se verifica la estabilidad del pH y del bioburden utilizando el análisis microscópico de la coloración Gram para establecer los niveles aceptables indicados en el documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute (4).

Antes de la aprobación final, cada lote productivo de Eswab se someterá a controles de calidad para verificar la capacidad de mantener vivas a las bacterias a temperaturas refrigeradas (4 – 8 °C) y a temperatura ambiente controlada (20 – 25 °C) para determinados periodos de tiempo con un panel de bacterias aerobias, anaerobias y fastidiosas mediante la utilización de los métodos Roll-Plate y Swab Elution (4). Los análisis de vitalidad también incluyen el control del crecimiento exagerado de las bacterias a temperaturas refrigeradas (4 – 8 °C), que tendría que corresponder a un aumento del crecimiento ≤ 1 log durante un periodo especificado. Cada lote de producción de Eswab se analiza para determinar la eventual actividad enzimática e inhibidora que podría impedir la amplificación de los ácidos nucleicos. Las encimas DNase y RNase degradan a los ácidos nucleicos, pudiendo impedir una adecuada amplificación. La presencia de DNase y RNase en el medio de transporte y conservación podría producir resultados falsos-negativos. La prueba consiste en el agregado de una cierta dosis de DNA o RNA (escala Kb) al medio de transporte Eswab y en el análisis sucesivo del nivel de integridad del DNA y RNA. Los procedimientos para el control de la calidad de los dispositivos de transporte bacteriológico realizados con los métodos Roll-Plate y Swab Elution se indican en el documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute y en otras publicaciones (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Si los controles de calidad producirán resultados aberrantes, dichos resultados del análisis no se tendrán que difundir.

RESTRICCIONES

1. Durante la manipulación de las muestras clínicas en el laboratorio será necesario utilizar guantes de látex y todos los demás dispositivos de protección que sean necesarios. Respetar el nivel de bioseguridad 2 establecido por el CDC (34, 35, 36, 37).
2. La utilización del sistema Eswab para la extracción de muestras del aparato urinario –y genital de las mujeres embarazadas no se evaluó.
3. La condición, la planificación y el volumen de la muestra recogida son variables muy importantes a los fines de la credibilidad del resultado. Se recomienda seguir los procedimientos para la recolección de las muestras (2, 3, 17, 18, 20, 21, 24).
4. El sistema Eswab está destinado al muestreo y al transporte de bacterias aerobias, anaerobias y fastidiosas como la *Neisseria gonorrhoeae*, como así también para la búsqueda rápida de los antígenos bacterianos, virales y de la Clamidia y de los ácidos nucleicos. El producto no está destinado para el mantenimiento de la vitalidad de los virus y de la Clamidia. El sistema Eswab está destinado para el muestreo y el transporte de bacterias aerobias, anaerobias y molestas como la *Neisseria gonorrhoeae*.
5. El sistema Eswab se tiene que utilizar con las probetas de transporte y los tampones suministrados en el empaque. La utilización de probetas y tampones de distinta proveniencia podría influir sobre las prestaciones del producto y el resultado del análisis.
6. El sistema Eswab se convalidó para los siguientes métodos de extracción: membrana de del de silicio, partículas magnéticas, extracción orgánica y térmica. También se admite el uso de otras técnicas con una previa validación.
7. Después de la extracción del DNA una parte del medio Eswab se puede amplificar sin la fase de purificación. En este caso se aconseja la dilución del medio Eswab en 1:5.

ADVERTENCIAS

-  Este producto es un dispositivo de un solo uso; su reutilización podría comportar riesgo de infección y/o un resultado incorrecto.
- No volver a esterilizar a los tampones inutilizados.
- No volver a embalar.
- El sistema no se puede utilizar para la recolección y el transporte de distintos microorganismos diverso a aquellos especificados (aerobias, anaerobias y molestas).
- No utilizar para aplicaciones distintas de la utilización establecida.
- La utilización del producto con un kit de diagnosis rápida o con instrumentos de diagnosis la tendrá que convalidar por el usuario.
- No utilizar en caso de evidentes daños (por ejemplo: punta o barra rotas)
- El tampón hisopo se clasifica como dispositivo médico de Clase IIa según la Directiva Europea sobre los Dispositivos Médicos 93/42/CEE Utilización Transiente Quirúrgicamente Invasivo. Según dicha clasificación quiere decir que los tampones se pueden utilizar para investigar sobre superficies y orificios del cuerpo humano (por ejemplo: nariz, garganta, vaginal y heridas profundas)
- No ingerir el medio de transporte.
- Seguir con mucha atención las instrucciones de uso. El fabricante declina cualquier responsabilidad que derive de la utilización realizada por personas no cualificadas o que no hayan sido autorizadas.
- La manipulación del producto la tiene que realizar exclusivamente el personal capacitado.
- El tampón de bloqueo no está previsto para los tampones minipunta , permasales, uretrales y pediátricos (481CE, 482CE,483CE y 484CE) porque, siendo muy flexibles, no se podrían bloquear dentro de la cavidad de la tapa.
- Todas las muestras contienen microorganismos infectados, por lo tanto se recomienda mucha cautela. Después del uso eliminar las probetas y los hisopos según la praxis de laboratorio que se refiere a los desechos infectados. Respetar el nivel de bioseguridad 2 establecido por el CDC (34, 35, 36, 37).
- No utilizar el terreno de transporte Eswab para humedecer el hisopo antes de la recolección, para el enjuague o la irrigación de los lugares de recolección.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos dependen en su mayor parte de la adecuación de las operaciones de recolección, transporte y análisis en laboratorio.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

En un laboratorio clínico normal el método más utilizado para el inoculante de los dispositivos de transporte sobre un terreno en placa es el Roll-Plate. El límite de dicho método (4) para la verificación de la vitalidad de las bacterias está en que no es un método cuantitativo sino que, al máximo, es semi cuantitativo. Además, otros métodos cuantitativos como el Swab Elution (4) no refleja el protocolo estándar usado en la mayoría de los laboratorios. Mientras el método Swab Elution permite una medición cuantitativa de la habilidad de un sistema de transporte de mantener vivos a los organismos, la técnica Roll-Plate examina a algunas variables mecánicas del uso directo de los tampones en laboratorio, esta acción puede influir sobre la emisión de la muestra sobre las placas de cultivo. Por este motivo se realizaron numerosos estudios de vitalidad para determinar las prestaciones del sistema Eswab.

Los procedimientos de ensayo utilizados para determinar el rendimiento de vitalidad de las bacterias se basaron en los métodos de control de la calidad descriptos en el documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Los organismos de ensayo utilizados fueron aquellos indicados en el documento M40-A para establecer los reclamos y el control de calidad de los sistemas de transporte con tampón, incluyen un panel representativo de bacterias aerobias, anaerobias y molestas. Además, se ensayó un grupo adicional de organismos no solicitados o especificados en el documento M40-A para suministrar ultiores datos sobre la supervivencia de determinadas bacterias. Se efectuaron estudios de vitalidad bacterial en el sistema Copan Eswab en dos distintos niveles de temperatura, 4 – 8 °C y 20 – 25 °C, correspondientes a la temperatura de

refrigeración y a la temperatura ambiente. Los tampones que acompañan a cada sistema de transporte fueron inoculados 3 veces con 100 µl de concentración de organismos en suspensión. Después, los tampones se colocaron en las respectivas probetas de transporte y se mantuvieron durante 0, 24 y 48 horas. En cada uno de estos intervalos se analizó a cada tampón con el método Roll-Plate o Swab Elution.

El Sistema de recolección y transporte ESwab es capaz de mantener el DNA, el RNA y los antígenos de bacterias, virus y de la Clamidia durante 5 días si la conservación se realiza a temperatura ambiente (20 – 25 °C), 7 días si se realiza a 4 °C y hasta 6 meses en caso de congelamiento a -20 °C. ESwab no está contaminado por encima de DNase y RNase que interfieren con el proceso de amplificación.

Los organismos analizados se subdividieron en 3 grupos (ver abajo):

1. Aerobias y anaerobias facultativas:

Pseudomonas aeruginosa ATCC® BAA-427, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 6305, *Haemophilus influenzae* ATCC® 10211.

2. Anaerobias:

Bacteroides fragilis ATCC® 25285, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC® 25586, *Propionibacterium acnes* ATCC® 6919, *Prevotella melaninogenica* ATCC® 25845.

3. Bacterias molestas:

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 43069.

Otros organismos evaluados:

Enterococcus faecalis (Vancomycin resistant Enterococcus VRE) ATCC® 51299, *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA) ATCC® 43300, *Streptococcus agalactiae* (Streptococcus de Gruppo B) ATCC® 13813, *Clostridium perfringens* ATCC® 13124, *Clostridium sporogenes* ATCC® 3584, *Fusobacterium necrophorum* ATCC® 25286, *Peptococcus magnus* ATCC® 29328.

NOTAS

Para los reclamos sobre las prestaciones del producto y las prestaciones de vitalidad, se subdividen la bacterias en 3 grupos según el documento M40-A (4) del Clinical Laboratory Standards Institute en base al crecimiento en atmósfera de oxígeno:

1. Aerobias y anaerobias facultativas

Las bacterias aerobias necesitan aire u oxígeno libre para mantenerse vivas. Las bacterias anaerobias facultativas pueden sobrevivir ante la presencia o la ausencia de oxígeno. Muchas bacterias aerobias son bacterias anaerobias facultativas o sea, son capaces de vivir y crecer ante la ausencia de oxígeno. Por este motivo el grupo de las bacterias aerobias incluye la descripción de las anaerobias facultativas.

2. Anaerobias

Las bacterias anaerobias no necesitan el aire u oxígeno para vivir. Este grupo incluye anaerobias obligadas que sólo pueden vivir ante la ausencia de oxígeno.

3. Bacterias molestas.

Las bacterias molestas tienen requisitos de crecimiento complejos o exactos y el principal representante de este grupo es la *Neisseria gonorrhoeae*.

Según el documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute, con excepción de la *Neisseria gonorrhoeae*, los rendimientos de vitalidad se miden en cada organismo de ensayo a una distancia temporal de 48 horas comparadas con los criterios de aceptación. Para la *Neisseria gonorrhoeae* los rendimientos de vitalidad se miden cada 24 horas. En ambos métodos, Roll-Plate y Swab Elution, el sistema Copan ESwab pudo mantener una Recuperación bacteriana aceptable de todos los organismos evaluados, a temperaturas de refrigeración (4 – 8 °C) y a temperatura ambiente (20 – 25 °C). En el método Roll-Plate la Recuperación aceptable está fijada a ≥5 CFU después del tiempo de conservación especificado de la dilución que produjo un conteo en la placa con tiempo cero cercano a 300 CFU. En el método Swab Elution la Recuperación aceptable está fijada para una disminución de CFU que no sea superior a $3 \log_{10}$ (1×10^3 +/- 10%) entre el conteo en tiempo-cero y el CFU sobre los tampones después del tiempo de conservación especificado.

Los estudios de vitalidad también incluyen una verificación del mayor crecimiento bacteriano a temperaturas refrigeradas (4 – 8 °C).

Para el método Swab Elution el control del mayor crecimiento se realiza en todas las bacterias ensayadas para un tiempo de conservación de 48 horas, excluida la *Neisseria gonorrhoeae* ensayada a las 24 horas. La verificación del mayor crecimiento en el método Swab Elution se define como el mayor incremento de CFU de $1 \log_{10}$ entre el conteo en tiempo cero y el período de conservación. Para el método Roll-Plate dicha verificación se realiza con un

análisis separado en el cual los tampones se dosifican con 100 µl que contienen 10^2 CFU de cultivo de *Pseudomonas aeruginosa*. En estas condiciones, el mayor crecimiento se define como superior a un incremento de CFU de $1 \log_{10}$ entre el conteo en tiempo cero y el tiempo de conservación de 48 horas. Con el sistema de recolección y transporte Copan ESwab no se obtuvo un mayor crecimiento en ambos métodos en base a los criterios establecidos en el documento M40-4 del Clinical Laboratory Standards Institute.

ITALIANO

Sistema di trasporto e raccolta Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab)

(I) USO PREVISTO

Il sistema di raccolta e trasporto Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) viene utilizzato per la raccolta e il trasporto di campioni clinici contenenti batteri aerobi, anaerobi, fastidiosi, clamidia e virus. Nel laboratorio i campioni ESwab possono essere analizzati mediante procedure cliniche standard per:

- la coltura batterica di organismi aerobi, anaerobi e fastidiosi
- la ricerca di antigeni e di acidi nucleici di batteri, virus e clamidia.

SOMMARIO E PRINCIPI

La raccolta ed il trasporto di campioni microbiologici è una procedura di routine nella diagnosi delle infezioni batteriologiche e può essere eseguita con il sistema Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab). Il terreno di trasporto del sistema Copan ESwab è costituito da un liquido Amies modificato in grado di mantenere in vita una vasta gamma di organismi tra cui batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi di notevole rilevanza clinica come la *Neisseria gonorrhoeae*.

Essendo privo di enzimi e inibitori che potrebbero interferire con gli studi di amplificazione molecolare, il terreno di trasporto ESwab può anche essere impiegato per la stabilizzazione di acidi nucleici e antigeni, virali e batterici e della Clamidia durante il transito al laboratorio.

Il terreno di trasporto ESwab è un mezzo di mantenimento costituito da un tampone di fosfato inorganico, sali di calcio e magnesio e cloruro di sodio in ambiente ridotto per la presenza di tioglicolato di sodio (1).

Copan ESwab comprende una busta sterile contenente: una provetta in polipropilene etichettata con tappo a vite e fondo conico riempita con 1 ml di terreno di trasporto liquido Amies ed un tampone di raccolta con punta floccata in nylon.

Esistono tre tipi di confezioni: il primo contiene un applicatore di dimensioni standard con punta floccata in nylon destinato al campionamento in gola, vagina, ferite, retto e feci, il secondo contiene un applicatore con puntale mini per il campionamento in zone ristrette o poco accessibili come occhi, orecchie, naso, nasofaringe, gola e apparato urogenitale mentre il terzo tipo contiene un applicatore perinasale con punta floccata in nylon per la raccolta dalla nasofaringe o per campionamento pediatrico. Esistono inoltre altri due speciali applicatori per il campionamento dall'uretra e per il campionamento pediatrico, appositamente ideati per migliorare l'efficienza del dispositivo e per ridurre al minimo il disagio del paziente.

E' consigliabile inserire il tampone nella provetta ESwab subito dopo la raccolta del campione. Inoltre, per mantenere la vitalità degli organismi a livelli ottimali, si consiglia l'immediato trasporto al laboratorio dei campioni raccolti con il sistema ESwab, preferibilmente entro 2 ore dal prelievo (2, 3, 4). Nel caso in cui la consegna o l'analisi subiscano ritardi i campioni dovranno essere refrigerati a 4 – 8°C o conservati a temperatura ambiente (20-25°C) e analizzati entro 48 ore, ad eccezione delle colture di *Neisseria gonorrhoeae* per le quali è richiesta l'analisi entro le 24 ore. Studi scientifici indipendenti sui tamponi di trasporto hanno dimostrato che per alcuni batteri la vitalità risulta essere superiore se i campioni sono conservati a temperature refrigerate.

Per i tamponi contenenti campioni di antigeni batterici, virali e della Clamidia e acidi nucleici si consiglia l'analisi entro 5 giorni se la conservazione avviene a temperatura ambiente (20 – 25°C), entro 7 giorni se avviene a 4°C e entro 6 mesi in caso di congelamento a -20°C. Per le analisi di campioni destinati a coltura batterica o a indagini su antigeni/acidi nucleici è opportuno osservare le condizioni di trasporto e conservazione indicate qui sopra.

REAGENTI

Copan ESwab incorpora un terreno di trasporto liquido Amies modificato. Vedi testo in inglese.

NOTA TECNICA

Il terreno di trasporto Liquid Amies contenuto nelle provette di ESwab può apparire torbido.Ciò è considerato essere normale ed è dovuto alla presenza di sali nella composizione del terreno.

PRECAUZIONI D'USO

- Seguire le precauzioni approvate relative al periodo biologico nonché le tecniche asettiche. L'uso deve essere limitato al personale adeguatamente addestrato e qualificato.
- Tutti i campioni ed i materiali impiegati per l'analisi del prodotto sono da considerarsi potenzialmente infetti e devono quindi essere gestiti in modo tale da evitare il rischio di infezione del personale di laboratorio. Dopo l'uso sterilizzare tutti i rifiuti biopercicolosi compresi campioni, contenitori e terreni di trasporto. Attenersi alle altre disposizioni del Livello 2 di 7 stabilito dal CDC (34, 35, 36, 37).
- Attenersi rigorosamente alle istruzioni.

CONSERVAZIONE

Questo prodotto è pronto all'uso e non necessita di ulteriori preparazioni. Esso deve essere conservato nell'imballo originale a 5 – 25°C fino al momento dell'utilizzo. Non surriscaldare. Non incubare o congelare prima dell'uso. Una conservazione inadeguata diminuisce l'efficacia del prodotto. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sulla confezione esterna, sulle singole buste e sull'etichetta della provetta di trasporto.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

Non utilizzare Copan ESwab se (1) il prodotto presenta segni visibili di danneggiamento o contaminazione, (2) il prodotto presenta segni visibili di perdite, (3) la data di scadenza è stata superata, (4) la confezione del tampone è aperta oppure (5) in presenza di altri segni di deterioramento.

PRELIEVO, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI

Il prelievo e la gestione dei campioni raccolti per analisi batteriologiche che prevedono l'isolamento dei batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi come la *Nesseria gonorrhoeae* devono essere eseguiti in conformità con i manuali e le guide pubblicati (2, 3, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Al fine di mantenere la massima vitalità degli organismi nonché l'integrità degli antigeni e degli acidi nucleici, si consiglia l'immediato trasporto al laboratorio dei campioni raccolti con il sistema ESwab, preferibilmente entro 2 ore dal prelievo (2, 3, 4). Nel caso in cui la consegna o l'analisi subiscano ritardi i campioni dovranno essere refrigerati a 4 – 8°C o conservati a temperatura ambiente (20-25°C) e analizzati entro 48 ore, ad eccezione delle colture di *Neisseria gonorrhoeae* per le quali è richiesta l'analisi entro le 24 ore.

Per i tamponi contenenti campioni di antigeni batterici, virali e della Clamidia e degli acidi nucleici si consiglia l'analisi entro 5 giorni se la conservazione avviene a temperatura ambiente (20 – 25°C), entro 7 giorni se avviene a 4°C e entro 6 mesi in caso di congelamento a -20°C.

Per le analisi di campioni destinati a coltura batterica o a indagini su antigeni/acidi nucleici è opportuno osservare le condizioni di trasporto e conservazione indicate qui sopra.

Per il trasporto e la movimentazione dei campioni è richiesta la piena conformità ai regolamenti nazionali e federali (19, 22, 23). Il trasporto di campioni tra istituzioni mediche dev'essere conforme ai regolamenti interni di tali istituzioni. E' consigliabile analizzare tutti i campioni subito dopo il loro arrivo al laboratorio.

CONTENUTO

Copan ESwab viene fornito in scatole da cinquanta (50) unità, mentre ogni cartone ne contiene 10 x 50. Ogni unità comprende : una provetta in polipropilene etichettata con tappo a vite e fondo conico riempita con 1 ml di terreno di trasporto liquido Amies un tampone di raccolta con punta floccata in nylon (Fig. 1 – Vedi versione in inglese).

Esistono tre tipi di confezione: la prima contiene un applicatore di dimensioni standard con punta floccata in nylon destinato al campionamento in gola, vagina, ferite, retto e feci, la seconda contiene un applicatore con punta mini per il campionamento in zone ristrette o poco accessibili come occhi, orecchie, naso, nasofaringe, gola e apparato urogenitale mentre la terza contiene un applicatore perinasale con punta floccata in nylon per la raccolta dalla nasofaringe o per uso pediatrico.

Sugli applicatori floccati è previsto un punto di rottura, contrassegnato da una linea colorata, al fine di facilitare la rottura dell'applicatore nella provetta contenente il terreno di trasporto dopo il prelievo.

La particolare conformazione interna dei tappi delle provette, a forma di imbuto, permette inoltre l'ancoraggio dell'asta del tampone dopo la rottura. Avvitando il tappo sulla provetta l'estremità dello stelo 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 manico. Il tappo con la particolare conformazione a imbuto non è invece previsto per i tamponi a punta mini, perinasali, uretrali e pediatrici (481CE, 482CE, 483CE e 484CE) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere bloccati all'interno della cavità.

MATERIALI NECESSARI MA NON INCLUSI

ESwab non comprende i materiali per l'isolamento e la coltura dei batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi, nonché i materiali per l'estrazione e l'amplificazione di antigeni batterici, virali della Clamidia e degli acidi nucleici come piastre o provette di coltura, sistemi di incubazione, bombole di gas o workstation anaerobiche. Per i protocolli relativi alle tecniche di coltura e identificazione dei batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi dai campioni clinici si rimanda l'utente ai manuali di laboratorio (17, 18, 21, 22,43).

ISTRUZIONI PER L'USO

Il sistema di raccolta e trasporto Copan ESwab è disponibile nelle versioni indicate nella tabella sottostante.

N. catalogo	Copan ESwab – Descrizione prodotti	Imballo	Siti di campionamento	Tappo presile
480CE 490CE.A	Dispositivo sterile di campionamento monouso contenente: - Provetta in polipropilene con tappo a vite rosa riempita con 1ml di terreno di trasporto liquido Amies. - Un tampone di dimensioni standard con punta floccata in nylon.	Scatola da 50 unità 10x50 unità per cartone	Gola, vagina e ferite, retto, feci	SI
481CE 491CE.A	Dispositivo sterile di campionamento monouso contenente: - Provetta in polipropilene con tappo a vite arancio riempita con 1ml di terreno di trasporto liquido Amies. - Un tampone con punta mini floccata in nylon.	Scatola da 50 unità 10x50 unità per cartone	Occhi, naso, nasofaringe, gola, apparati urogenitali	NO
482CE	Dispositivo sterile di campionamento monouso contenente: - Provetta in polipropilene con tappo a vite blu riempita con 1ml di terreno di trasporto liquido Amies. - Un tampone perinasale con punta floccata in nylon .	Scatola da 50 unità 10x50 unità per cartone	Nasofaringe, uso pediatrico	NO
483CE	Dispositivo sterile di campionamento monouso contenente: - Provetta in polipropilene con tappo a vite arancio riempita con 1ml di terreno di trasporto liquido Amies. - Un tampone uretrale con punta floccata in nylon .	Scatola da 50 unità 10x50 unità per cartone	Apparato urogenitale	NO
484CE	Dispositivo sterile di campionamento monouso contenente: - Provetta in polipropilene con tappo a vite blu riempita con 1ml di terreno di trasporto liquido Amies. - Un tampone pediatrico con punta floccata in nylon	Scatola da 50 unità 10x50 unità per cartone	Uso pediatrico	NO

493CE02	Dispositivo sterile di campionamento monouso contenente: - Provetta in polipropilene con tappo a vite rosa riempita con 1ml di terreno di trasporto liquido Amies. - Un tampone rosa di dimensioni standard con punta floccata in nylon e un tampone bianco di dimensioni standard con punta floccata in nylon	Scatola da 50 unità 10x50 unità per cartone	Naso, gola, perineo	SI
493CE03	Dispositivo sterile di campionamento monouso contenente: - Provetta in polipropilene con tappo a vite rosa riempita con 1ml di terreno di trasporto liquido Amies. - due tamponi rosa di dimensioni standard con punta floccata in nylon e un tampone bianco di dimensioni standard con punta floccata in nylon	Scatola da 50 unità 10x50 unità per cartone	Naso, gola, perineo	SI

Per verificare la disponibilità di ulteriori versioni del prodotto consultare il nostro sito web www.copaninnovation.com

¥ Il test di performance con il sistema Copan ESwab è stato eseguito utilizzando ceppi batterici inoculati nel sistema di trasporto in conformità con i protocolli di prova descritti nella norma Laboratory Standards Institute M40-A (4). Non sono stati utilizzati campioni clinici.

Raccolta dei campioni

La raccolta dei campioni dal paziente rappresenta una fase estremamente delicata dalla quale dipende il successo dell'isolamento e dell'identificazione degli organismi infettivi. Per istruzioni più dettagliate sulle procedure di raccolta consultare i manuali di riferimento pubblicati (2, 17, 18, 20, 21, 22).

1. Aprire la busta di Eswab, togliere la provetta ed il tampone.
2. Togliere l'applicatore dalla bustina e raccogliere il campione dal paziente.
3. Svitare il tappo in maniera asettica e toglierlo dalla provetta.
4. Introdurre il tampone nella provetta e rompere l'applicatore nel punto indicato dalla linea colorata. Smaltire la parte rotta dello stelo in un apposito contenitore per rifiuti medicali.
5. Riavvitare il tappo sulla provetta chiudendolo con forza.
6. Scrivere i dati del paziente sull'etichetta della provetta o applicare un'etichetta di identificazione del paziente. Inviare il campione al laboratorio di analisi.

Per i sistemi di raccolta Eswab MRSA codici 493:

1. Aprire la busta contenente il tubo di trasporto e i tamponi di prelievo.
2. **Usare il tampone ROSA per raccogliere il primo campione** (per es.: gola, perineo, naso o qualsiasi altro punto di prelievo) e quindi aprire la provetta.
3. Inserire il tampone usato per il prelievo nel terreno di trasporto Liquid Amies fino al raggiungimento del fondo del tubo. **Immergere e agitare il tampone per 5 secondi.**
4. **Estrarre il tampone** oltre il livello del liquido e spremere contro le pareti del tubo 5 volte per favorire il rilascio del campione dalle fibre del tampone. Togliere il tampone e ritappare la provetta.
5. Gettare il tampone rosa nel contenitore per Biohazard.
6. **Usare il tampone BIANCO per raccogliere l'ultimo campione** (per es.: gola, perineo, naso o qualsiasi altro punto di prelievo) e quindi aprire la provetta.
7. **Inserire il tampone nella provetta e spezzarlo all'interno della provetta al punto di frattura.**
8. **Richiudere il tubo con all'interno il tampone BIANCO, riportare i dati del paziente sul tubo e spedito al laboratorio per l'analisi.**

Ripetere i punti da 2 a 5 se il sistema di raccolta Eswab MRSA è composto da 2 tamponi rosa usare il secondo tampone rosa per raccogliere il secondo campione per es.: gola, perineo, naso o qualsiasi altro punto di prelievo).
In caso contrario procedere al punto 7.

Per la raccolta e la movimentazione di campioni microbiologici si raccomanda l'utilizzo di adeguati mezzi di protezione come guanti sterili e occhiali per proteggersi da eventuali spruzzi o aerosol durante la rottura dello stelo nella provetta.

L'operatore non deve toccare la zona al di sotto della linea colorata stampata sull'applicatore, cioè la zona compresa tra questa linea e la punta del tampone (Fig 3 Vedi versione inglese), per non contaminare lo stelo e la coltura e quindi invalidare i risultati dell'analisi.

L'impugnatura deve avvenire al di sopra della linea di rottura come indicato nella Fig. 3 (vedi versione inglese). Dopo la raccolta del campione dal paziente il tampone viene rotto nel punto indicato dalla linea rosa all'interno della provetta Eswab contenente il terreno di trasporto, dopodiché l'operatore smaltisce la parte rotta dello stelo in un contenitore per rifiuti medicali e mette il tappo alla provetta. L'avvitamento del tappo sulla provetta muove il tampone nella cavità conica interna del tappo (Fig. 4 vedi versione inglese) bloccandolo definitivamente.

Quando la provetta viene aperta nel laboratorio, l'applicatore rimane attaccato al tappo. Ciò permette all'operatore di rimuovere il tampone con facilità e di eseguire le analisi microbiologiche necessarie utilizzando il tappo come impugnatura. Il tappo con la particolare conformazione a imbuto non è invece previsto per i tamponi per nasali e pediatrici (482CE e 484CE) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere bloccati all'interno della cavità.

Inoculazione delle colture di campioni ESwab in laboratorio

Per la coltura batteriologica dei campioni ESwab è consigliabile utilizzare terreni e tecniche adeguati a seconda dei campioni e degli organismi. Per i terreni e le tecniche di isolamento e identificazione dei batteri da tamponi clinici rimandiamo l'utente ai manuali e alle guide pubblicati (17, 18, 21, 24, 25).

L'analisi delle colture di campioni raccolti mediante tampone volte alla ricerca di batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi come la *Neisseria gonorrhoeae* implicano normalmente l'uso di un terreno solido Agar in piastre Petri. La procedura di inoculazione dei campioni ESwab in piastre Petri è indicata qui di seguito.

NB: Per la movimentazione dei campioni clinici utilizzare guanti in lattice ed altri mezzi di protezione generale. Rispettare il livello di biosicurezza 2 stabilito dal CDC (34, 35, 36, 37).

1. Scuotere con forza la provetta ESwab contenente il tampone tenendola tra il pollice e l'indice per 5 secondi oppure agitarla tramite vortex per 5 secondi per staccare il campione dal tampone e disperderlo nel terreno liquido in modo uniforme.
2. Se l'analisi prevede studi molecolari trasferire una aliquota del terreno liquido in una provetta sterile.
3. Svitare il tappo della provetta Eswab e togliere l'applicatore
4. Strofinare la punta del tampone sulla superficie di un settore della piastra di coltura per l'inoculo primario.
5. Nel caso in cui sia necessario piastrare un secondo terreno di coltura, rimettere l'applicatore Eswab nella provetta per 2 secondi per assorbire la sospensione formata dal terreno di trasporto e dal campione del paziente e ripetere il punto n. 3.
6. Ripetere l'operazione descritta al punto 4 prima di inoculare ulteriori piastre.

Nella procedura descritta qui sopra l'applicatore ESwab viene utilizzato come un'ansa per inoculazione per trasferire la sospensione sulla piastra di coltura creando l'inoculo primario (Fig. 5 vedi versione inglese). In alternativa l'operatore può vortexare la provetta con il tampone per 5 secondi e successivamente trasferire 100µl di sospensione sulle singole piastre di coltura tramite una pipetta volumetrica con punta sterile. Per strisciare l'inoculo primario del campione del paziente sulla superficie della piastra seguire le procedure standard di laboratorio (Fig. 6 vedi versione inglese).

Il tappo con la particolare conformazione a imbuto non è invece previsto per i tamponi a punta mini, per nasali, uretrali e pediatrici (481CE, 482CE, 483CE e 484CE) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere bloccati all'interno della cavità.

L'operatore può miscelare la provetta Eswab con il tampone all'interno in un vortex per 5 secondi e successivamente trasferire 100µl volumi della sospensione in ogni piastra di coltura tramite pipetta volumetrica o punte sterili.

Utilizzo di ESwab con sistemi automatici

Alcuni codici di Eswab possono essere processati con sistemi automatici. Fare riferimento alle istruzioni fornite dal produttore dell'automazione sulle modalità di utilizzo dell'Eswab con l'automazione. Il tappo prensile non è previsto per i tamponi a punta mini, per nasali, uretrali e pediatrici (481CE, 482CE, 483CE e 484CE)

che, essendo molto flessibili, potrebbero non essere bloccati all'interno della cavità. Estrarre quindi l'applicatore dalla provetta utilizzando un paio di pinzette prima di posizionare il tubo nella macchina in quanto potrebbe interferire con il suo normale funzionamento.

Preparazione dello striscio con colorazione di Gram dei campioni ESwab

L'analisi di laboratorio dei campioni clinici raccolti da determinati siti del paziente possono comprendere l'esame microscopico di preparazioni colorate (striscio diretto) utilizzando la procedura di colorazione di Gram. Ciò fornisce importanti informazioni ai medici che curano pazienti affetti da malattie infettive (26). In molti casi una colorazione Gram ha fornito un valido supporto alla definizione di una diagnosi; ad esempio, con tamponi prelevati dall'endocervice o dall'uretra per sospette infezioni da *Neisseria gonorrhoeae* oppure con tamponi vaginali per diagnosticare la vaginosi batterica (27, 28, 29, 30, 31, 39). La colorazione di Gram può anche essere d'aiuto per valutare la qualità del campione e contribuire alla scelta del terreno di coltura, specialmente in presenza di una flora batterica mista (32). Il campione trasportato Onel liquido di eluizione dell' ESwab, rappresenta una sospensione omogenea in fase liquida. Può essere uniformemente distribuito sul vetrino consentendo una chiara e facile lettura dello stesso.

I campioni trasportati con il sistema Copan ESwab possono essere trasferiti su un vetrino microscopico per il test della colorazione Gram, nel modo illustrato qui sotto, campionando una porzione della sospensione vortexata del campione (21, 32).

NB: Per la movimentazione dei campioni clinici utilizzare guanti in lattice ed altri mezzi di protezione generale. Rispettare il livello di biosicurezza 2 stabilito dal CDC (34, 35, 36, 37).

1. Prendere un vetrino pulito, posizionarlo su una superficie piana e delimitare una zona utilizzando una penna con punta diamantata o di vetro per identificare la posizione dell'inoculo.
Nota: un vetrino con un'area circolare premarcata di 20 mm di diametro può essere usato.
2. Vortexare la provetta ESwab per 5 secondi per disperdere il campione in modo uniforme nel terreno di trasporto liquido Amies.
3. Togliere il tappo della provetta ESwab e, utilizzando una pipetta sterile, trasferire 1-2 gocce di terreno liquido Amies nella zona contrassegnata sul vetrino.
Nota: circa 30 µl costituirebbe un volume di liquido adeguato al vetrino con un'area circolare premarcata di 20 mm di diametro.
4. Lasciar asciugare il campione sul vetrino a temperatura ambiente o mettere il vetrino in un fornello di asciugatura elettrico settato ad una temperatura non superiore ai 42°C.
5. Fissare usando metanolo. La fissazione al metanolo è raccomandata in quanto previene la lisi dei Globuli Rossi, evita di danneggiare tutte le cellule ospiti e di ottenere un background più pulito (21, 26, 32).
6. Per il test della colorazione Gram attenersi ai manuali di laboratorio. Se si utilizzano reagenti Gram disponibili sul mercato si raccomanda di seguire le istruzioni del produttore.

Per ulteriori informazioni o istruzioni sulla preparazione dei vetrini per analisi microscopica, sulla colorazione Gram e sull'interpretazione e la descrizione dell'analisi al microscopio si consiglia la consultazione dei manuali di laboratorio (20, 24, 25, 26, 32).

Utilizzo dei campioni ESwab per la realizzazione di 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.

NB: Per la movimentazione dei campioni clinici utilizzare guanti in lattice ed altri mezzi di protezione generale. Rispettare il livello di biosicurezza (BSL) 2 stabilito dal CDC (34, 35, 36, 37).

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'amplicon (42).

1. Scuotere la provetta ESwab in un vortex per 10 secondi, svitare il tappo e, tenendolo tra il pollice e l'indice, farlo ruotare per far fuoriuscire la maggior parte del fluido dalla punta.
Il tappo con la particolare conformazione a imbuto non è invece previsto per i tamponi a punta mini, perinasali, uretrali e pediatrici (481CE, 482CE, 483CE e 484CE) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere bloccati all'interno della cavità.
In questo caso, dopo aver lasciato fuoriuscire il fluido dalla punta, estrarre l'applicatore dalla provetta utilizzando un paio di pinzette.
2. Eliminare il campione e trasferire il campione in una provetta di estrazione seguendo le normali procedure di laboratorio.
3. Il sistema ESwab è stato validato con i seguenti metodi di estrazione: membrana di silice, particelle magnetiche, estrazione organica e termica. E' ammesso l'uso di altre tecniche previa validazione.
4. Nel caso in cui l'estrazione non fosse possibile conservare i campioni ESwab a -20°C.
5. Il sistema ESwab è stato validato con metodi di amplificazione.

Utilizzo dei campioni ESwab per la realizzazione di test rapidi per antigeni

1. Scuotere la provetta ESwab in un vortex per 10 secondi.
2. Utilizzare il fluido campione oppure il campione ed effettuare il test secondo le relative specifiche in dotazione al kit e secondo le normali procedure di laboratorio.
Il tappo con la particolare conformazione a imbuto non è invece previsto per i tamponi a punta mini, perinasali, uretrali e pediatrici (481CE, 482CE, 483CE e 484CE) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere bloccati all'interno della cavità. Estrarre l'applicatore dalla provetta utilizzando un paio di pinzette.

CONTROLLO QUALITÀ

Tutti i lotti del sistema ESwab vengono sottoposti alla prova di sterilità, mentre tutti i lotti dei tamponi vengono testati per verificare la loro atossicità batterica. Per il terreno di trasporto liquido Amies viene verificata la stabilità del pH e del bioburden utilizzando l'analisi microscopica della colorazione Gram per stabilire i livelli accettabili indicati nel documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute (4).

Prima dell'approvazione finale, ciascun lotto produttivo di ESwab viene sottoposto a controlli di qualità atti a verificare la capacità di mantenere in vita i batteri sia a temperature refrigerate (4 – 8°C) che a temperatura ambiente (20 – 25°C) per determinati periodi di tempo con un pannello di batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi tramite l'impiego dei metodi Roll-Plate e Swab Elution (4). Le analisi di vitalità comprendono anche la verifica della sovraccrescita batterica a temperature refrigerate (4 – 8°C), che dovrebbe corrispondere a un aumento della crescita di ≤ 1 log decimale in un periodo specificato. Ciascun lotto di produzione di ESwab viene analizzato per determinare l'eventuale attività enzimatica e inibitoria che potrebbe impedire l'amplificazione degli acidi nucleici. Gli enzimi DNase e RNase degradano gli acidi nucleici impedendone quindi un'adeguata amplificazione. La presenza di DNase e RNase nel terreno di trasporto e conservazione potrebbe condurre a risultati falsi-negativi. Il test consiste nell'aggiunta di una certa dose di DNA o RNA (scala Kb) al terreno di trasporto ESwab e nella successiva analisi del livello di integrità del DNA e RNA.

Le procedure per il controllo della qualità dei dispositivi di trasporto batteriologico eseguito con i metodi Roll-Plate e Swab Elution sono illustrate nel documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute e in altre pubblicazioni (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41).

RESTRIZIONI

1. Durante la manipolazione dei campioni clinici, in laboratorio indossare guanti in lattice e tutti gli altri dispositivi di protezione necessari. Nella movimentazione dei campioni provenienti dai pazienti rispettare il livello di biosicurezza 2 stabilito dal CDC (34, 35, 36, 37).
2. L'utilizzo del sistema ESwab per la raccolta di campioni dall'apparato urogenitale delle donne gravide non è stato sottoposto a valutazione.
3. La condizione, la tempistica e il volume del campione raccolto sono variabili molto importanti ai fini dell'attendibilità del risultato. Si raccomanda di seguire le procedure per la raccolta dei campioni (2, 3, 17, 18, 20, 21, 24).
4. Il sistema ESwab è destinato al campionamento ed al trasporto di batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi come la *Neisseria gonorrhoeae*, nonché per la ricerca rapida degli antigeni batterici, virali e della Clamidia e degli acidi nucleici. Il prodotto non è destinato al mantenimento della vitalità dei virus e della Clamidia.
5. Il sistema ESwab dev'essere utilizzato con le provette di trasporto ed i tamponi forniti nella busta.. L'utilizzo di provette e tamponi di diversa provenienza potrebbe influire sulle prestazioni del prodotto e sul risultato dell'analisi.
6. Il sistema ESwab è stato validato con i seguenti metodi di estrazione: membrana di silice, particelle magnetiche, estrazione organica e termica. E' ammesso l'uso di altre tecniche previa validazione.
7. Dopo l'estrazione del DNA una parte del terreno ESwab può essere amplificata senza fase di purificazione. In questo caso si consiglia la diluizione del terreno ESwab in 1:5.

AVVERTENZE

-  Questo prodotto è esclusivamente monouso; il riutilizzo può causare rischio di infezione e/o di risultati inaccurati.
- Non risterilizzare i tamponi inutilizzati prima dell'uso.
- Non re-imballare.
- Il sistema non è indicato per la raccolta ed il trasporto di microrganismi diversi da quelli specificati (aerobi, anaerobi e fastidiosi)
- Non impiegare per applicazioni diverse dall'utilizzo stabilito.
- L'utilizzo del prodotto con un kit di diagnosi rapida o con strumenti diagnostici deve essere validato a priori dall'utente.
- Non utilizzare in caso di evidenti segni di danneggiamento (es. puntale o asta rotti)
- Il tampone applicatore è classificato come dispositivo medico di Classe IIa (Utilizzo Chirurgicamente Invasivo Transitorio) in conformità con la Direttiva Europea sui Dispositivi Medici 93/42/CEE. Tale classificazione significa che i tamponi possono essere impiegati per indagini su superfici ed orifici del corpo umano (es. naso, gola, vagina e ferite profonde)
- Non ingerire il terreno di trasporto.
- Seguire attentamente le istruzioni d'uso. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'utilizzo da parte di persone non qualificate o non autorizzate.
- La manipolazione del prodotto deve essere effettuata esclusivamente da personale addestrato.
- Il tappo con la particolare conformazione a imbuto non è invece previsto per i tamponi a punta mini, perinasali, uretrali e pediatrici (481CE, 482CE, 483CE e 484CE) che, essendo molto flessibili, non potrebbero essere bloccati all'interno della cavità.
- Tutti i campioni contengono 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 (34, 35, 36, 37).
- Non utilizzare il terreno di trasporto ESwab per inumidire l'applicatore prima della raccolta, per il risciacquo o il dosaggio sui siti di raccolta.

RISULTATI

I risultati ottenuti dipendono ampiamente dall'adeguatezza delle operazioni di raccolta, trasporto ed analisi in laboratorio.

CARATTERISTICHE DI PERFORMANCE

In un normale laboratorio clinico il metodo più utilizzato per l'inoculo dei dispositivi di trasporto su un terreno in piastra è il Roll-Plate. Il limite di tale metodo (4) per la verifica della vitalità dei batteri consiste nel fatto che non è un metodo quantitativo ma, al massimo, semiquantitativo. D'altra parte, altri metodi quantitativi come lo Swab Elution (4) non riflettono le procedure standard usate nella maggior parte dei laboratori. Mentre il metodo Swab Elution permette una misurazione quantitativa dell'abilità di un sistema di trasporto di mantenere in vita gli organismi, la tecnica Roll-Plate prende in esame alcune variabili meccaniche dell'uso diretto dei tamponi in laboratorio, azione che può influire sul rilascio del campione sulle piastre di coltura. Per questo motivo sono stati condotti numerosi studi di vitalità per determinare le prestazioni del sistema ESwab.

Le procedure di prova utilizzate per determinare la performance di vitalità dei batteri si sono basate sui metodi di controllo della qualità descritti nel documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Gli organismi di prova utilizzati erano quelli indicati nel documento M40-A per stabilire il controllo qualità dei sistemi di trasporto a tampone e comprendono un pannello rappresentativo di batteri aerobi, anaerobi e fastidiosi. E' stato inoltre testato un gruppo aggiuntivo di organismi non richiesti o specificati dal documento M40-A per fornire ulteriori dati sulla sopravvivenza di determinati batteri.

Sono stati condotti studi di vitalità batterica sul sistema Copan ESwab a due diversi range di temperatura, 4 – 8 °C e 20 – 25°C, corrispondenti alle temperatura di refrigerazione ed alla temperatura ambiente. I tamponi che accompagnano ciascun sistema di trasporto sono stati inoculati in triplicato con 100 µl di sospensione batterica. Successivamente i tamponi sono stati posti nelle relative provette di trasporto e mantenuti per 0, 24 e 48 ore. A questi intervalli ogni tampone è stato analizzato con il metodo Roll-Plate o Swab Elution.

Il Sistema di raccolta e trasporto ESwab è in grado di mantenere il DNA, l'RNA e gli antigeni di batteri, virus e della Clamidia per 5 giorni se la conservazione avviene a temperatura ambiente (20 – 25°C), 7 giorni se avviene a 4°C e fino a 6 mesi in caso di refrigerazione a –20°C.

ESwab non è contaminato da enzimi DNase e RNase che interferiscono con il processo di amplificazione.

Gli organismi analizzati sono stati suddivisi in 3 gruppi (vedi sotto):

1. Aerobi e anaerobi facoltativi:

Pseudomonas aeruginosa ATCC® BAA-427, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 6305, *Haemophilus influenzae* ATCC® 10211.

2. Anaerobi:

Bacteroides fragilis ATCC® 25285, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC® 25586, *Propionibacterium acnes* ATCC® 6919, *Prevotella melaninogenica* ATCC® 25845.

3. Batteri fastidiosi:

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 43069.

Altri organismi valutati:

Enterococcus faecalis (Vancomycin resistant Enterococcus VRE) ATCC® 51299, *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA) ATCC® 43300, *Streptococcus agalactiae* (Streptococcus di Gruppo B) ATCC® 13813, *Clostridium perfringens* ATCC® 13124, *Clostridium sporogenes* ATCC® 3584, *Fusobacterium necrophorum* ATCC® 25286, *Peptococcus magnus* ATCC® 29328.

NOTE

Per le dichiarazioni sulle prestazioni del prodotto e le prestazioni di vitalità i batteri vengono suddivisi in 3 gruppi in conformità con il documento M40-A (4) del Clinical Laboratory Standards Institute in base alla crescita in atmosfera di ossigeno:

1. Aerobi e anaerobi facoltativi

I batteri aerobi hanno bisogno di aria o di ossigeno libero per mantenersi in vita. I batteri anaerobi facoltativi possono sopravvivere sia in presenza che in assenza di ossigeno. Molti batteri aerobi sono batteri anaerobi facoltativi, cioè sono in grado di vivere e crescere in assenza di ossigeno. Per questo motivo il gruppo dei batteri aerobi comprende la descrizione degli anaerobi facoltativi.

2. Anaerobi

I batteri anaerobi non hanno bisogno di aria o ossigeno per vivere. Questo gruppo comprende anaerobi obbligati che possono vivere solo in assenza di ossigeno.

3. Batteri fastidiosi.

I batteri fastidiosos hanno requisiti di crescita complessi o esatti e il principale rappresentante di questo gruppo è la *Neisseria gonorrhoeae*.

In conformità con il documento M40-A del Clinical Laboratory Standards Institute, ad eccezione della *Neisseria gonorrhoeae*, le performance di vitalità vengono valutate per ciascun organismo dopo un tempo di attesa di 48 ore e confrontate con i criteri di accettazione. Per la *Neisseria gonorrhoeae* le performance di vitalità vengono valutate a 24 ore. In entrambi i metodi Roll-Palte e Swab Elution il sistema Copan Eswab è riuscito a mantenere un recupero batterico accettabile di tutti gli organismi valutati, sia a temperature di refrigerazione (4 – 8°C) che a temperatura ambiente (20 – 25°C). Nel metodo Roll-Plate il recupero accettabile è fissato a ≥ 5 CFU dopo il tempo di conservazione specificato della diluizione che ha prodotto un conteggio in piastra a tempo zero vicino a 300 CFU. Nel metodo Swab Elution il recupero accettabile è fissato a un decadimento di CFU non superiore a $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) tra il conteggio a tempo-zero e il CFU sui tamponi dopo il tempo di conservazione specificato.

Gli studi di vitalità comprendono anche una verifica della sovraccrescita batterica a temperature refrigerate (4 – 8°C). Per il metodo Swab Elution la verifica della sovraccrescita viene eseguita su tutti i batteri testati ad un tempo di conservazione di 48 ore, tranne per la *Neisseria gonorrhoeae* testata a 24 ore. La verifica della sovraccrescita nel metodo Swab Elution viene definita come maggiore di un incremento di CFU di $1 \log_{10}$ tra il conteggio a tempo zero ed il periodo di conservazione. Per il metodo Roll-Plate tale verifica viene eseguita con un'analisi separata nella quale i tamponi vengono dosati con 100 μ l contenenti 10^2 CFU di coltura di *Pseudomonas aeruginosa*. In queste condizioni, la sovraccrescita viene definita come maggiore di un incremento di CFU di $1 \log_{10}$ tra il conteggio a tempo zero e il tempo di conservazione di 48 ore. Il sistema di raccolta e trasporto Copan ESwab non ha mostrato sovraccrescita in entrambi i metodi sulla base dei criteri stabiliti nel documento M40-4 del Clinical Laboratory Standards Institute.

PORTUGUESO

Sistema para Coleta Transporte Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab)

(P) USO

O sistema de coleta e transporte Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab) é utilizado para coleta e transporte das amostras clínicas que contém bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas, clamídias e vírus. No laboratório, as amostras ESwab podem ser processadas por meio de procedimentos laboratoriais operacionais padrão para:

- cultura bacteriana de organismos aeróbios, anaeróbios e fastidiosos
- detecção de antígenos e ácidos nucleicos de bactérias, vírus e Clamídias.

RESUMO E PRINCÍPIOS

Um dos procedimentos de rotina no diagnóstico das infecções bacterianas envolve a coleta e transporte seguro das amostras. Isto pode ser realizado utilizando-se o sistema Copan Liquid Amies Elution Swab (ESwab). Copan ESwab contém um meio de cultura Amies Líquido modificado que pode manter viável um grande número de organismos, entre os quais bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas muito importantes do ponto de vista clínico como a *Neisseria gonorrhoeae*.

Como o meio de transporte Eswab não contém enzimas e inibidores que poderiam interferir com os testes de amplificação molecular, pode também ser utilizado para a estabilização dos antígenos e ácidos nucleicos virais, bacterianos e de Clamídias durante o transporte para o laboratório de análise.

O meio de transporte ESwab é um meio de manutenção constituído por um tampão de fosfato inorgânico, sal de cálcio e magnésio e cloreto de sódio em ambiente reduzido por causa da presença de tioglicolato de sódio (1).

Copan ESwab é composto de um embalagem estéril contendo: um tubo de ensaio em polipropileno com tampa de rosca e fundo cônico, etiquetado e preenchido com 1ml de meio de transporte líquido Amies e um swab de com ponta de fibra de nylon suave, agrupadas.

Há três tipos de dispositivos disponíveis: O primeiro tipo contém um aplicador de tamanho padrão com ponta de fibra de nylon agrupada utilizado para a coleta de amostras de naso, faringe, vaginal, retal e fezes ou feridas; o segundo contém um aplicador com uma ponta fina para a coleta de amostras em áreas de difícil acesso como olhos, ouvido, nariz, rinofaringe, garganta e trato urogenital; o terceiro tipo contém um aplicador transnasal com ponta de fibra de nylon agrupada para a coleta da nasofaringe ou para amostras pediátricas. Além disso, outros dois aplicadores especiais para a coleta de amostras uretral e para amostras pediátricas, foram desenvolvidos para melhorar a eficácia do dispositivo e para minimizar desconforto do paciente. Para maiores detalhes, por favor verifique a tabela 1.

Uma vez que a amostra é coletada, o swab deverá ser imediatamente colocado dentro do tubo de transporte Eswab para que fique em contato com o meio de transporte.

Swabs com amostras para cultura bacteriana, coletadas utilizando-se Eswab deverão ser transportadas diretamente para o laboratório, preferivelmente dentro de 2 horas a partir da coleta, para manter a viabilidade dos organismos ao nível ótimo, (2, 3, 4). Caso a entrega imediata ou o processamento sejam atrasados, as amostras deverão ser refrigeradas de 4 - 8°C ou conservadas a temperatura ambiente (20 - 25°C) e processadas dentro de 48 horas, exceto para culturas de *Neisseria gonorrhoeae* que precisam ser processadas dentro de 24 horas. Estudos científicos independentes sobre os sistemas de swabs para transporte demonstraram que a viabilidade de algumas bactérias é maior se as amostras são conservadas refrigeradas do que em temperatura ambiente (12-16).

Amostras para investigações de antígenos e ácidos nucleicos bacterianos, virais e de clamídias deverão ser processadas antes de 5 dias quando conservadas em temperatura ambiente controlada (20- 25°C); dentro de 7 dias se conservadas a 4°C e dentro de 6 meses quando conservadas a - 20°C. Para a análise de amostras destinadas à cultura bacteriana ou pesquisa de antígenos/ácidos nucleicos, aconselha-se seguir as condições de transporte e conservação indicadas acima.

REAGENTES

Copan ESwab contém um meio de transporte líquido Amies modificado. Consultar o texto em inglês.

NOTA TÉCNICA

O meio de cultura Amies Líquido contido nos tubos de transporte Eswab podem apresentar uma aparência turva. Isto é normal e é devido a presença de sais na formulação do meio de cultura

PRECAUÇÕES

- Seguir regras de biosegurança aprovadas e técnicas assépticas. O uso deve limitar-se à pessoas adequadamente treinadas e qualificadas.
- Todas as amostras e os materiais utilizados devem ser considerados como potencialmente infectados e devem ser manejados de maneira a evitar o risco de infecção dos funcionários do laboratório. Após o uso, esterilizar todos os resíduos que podem constituir potencial risco biológico. Seguir outras recomendações CDC para Biosegurança de Nível 2 (34, 35, 36 e 37).
- Ler e seguir rigorosamente as instruções.

CONSERVAÇÃO

Este produto está pronto para uso e não precisa preparações subsequentes. Deve ser conservado na embalagem original de 5 – 25°C até seu uso. Não super aquecer. Não incubar ou congelar antes do uso. A conservação inadequada reduz a eficácia do produto. Não utilizar depois da data de expiração claramente impressa no exterior da caixa, em cada embalagem e na etiqueta do tubo de ensaio de transporte.

DETERIORAÇÃO DO PRODUTO

Não utilizar Copan ESwab se (1) o produto mostrar sinais visíveis de danos ou contaminação, (2) o produto mostrar sinais visíveis de vazamento, (3) a data de expiração foi superada, (4) a embalagem do swab estiver aberta ou, (5) na presença de outros sinais de deterioração.

COLETA, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

Amostras coletadas para análises bacterianas que envolvem o isolamento de bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas como a *Neisseria gonorrhoeae* devem ser coletadas e manipuladas em conformidade com os manuais e os guias publicados (2, 3, 18, 19, 20, 21, 22 e 23).

Para manter a máxima viabilidade dos organismos e a integridade dos antígenos e dos ácidos nucleicos, é preciso transportar imediatamente para o laboratório as amostras coletadas utilizando-se o sistema ESwab, preferivelmente dentro das 2 horas subsequentes à coleta (2, 3 e 4). Caso a entrega ou o processamento sejam atrasados, as amostras deverão ser refrigeradas a 4 – 8°C ou conservadas a temperatura ambiente controlada (20-25°C) e processadas dentro de 48 horas, exceto no caso das culturas de *Neisseria gonorrhoeae* que precisam ser analisadas dentro de 24 horas.

Amostras para investigações de antígenos e ácidos nucleicos bacterianos, virais e de clamídias deverão ser processadas antes de 5 dias quando conservadas em temperatura ambiente controlada (20- 25°C); dentro de 7 dias se conservadas a 4°C e dentro de 6 meses quando conservadas a - 20°C.

Para a análise de amostras destinadas à cultura bacteriana ou pesquisa de antígenos/ácidos nucleicos, aconselha-se seguir as condições de transporte e conservação indicadas acima.

Transporte e a manipulação das amostras devem seguir total conformidade com as legislações nacionais e federais (19, 22 e 23). O transporte de amostras entre instituições médicas deve seguir as legislações internas dessas instituições. Aconselha-se processar todas as amostras logo que cheguem ao laboratório.

CONTEÚDO

Cada embalagem contém cinquenta (50) unidades; cada caixa contém 10 x 50 unidades; cada embalagem esterilizada contendo: um tubo de ensaio de polipropileno etiquetado com tampa de rosca e fundo cônico no qual foi colocado 1ml de meio de transporte líquido Amies e uma pequena embalagem de papel cirúrgico contendo um swab de coleta com ponta de fibra de nylon agrupada (Fig. 1 - Consultar o texto em inglês).

Há três tipos de dispositivos: o primeiro tipo contém um aplicador de tamanho padrão com ponta fibra de nylon agrupadas , utilizado para a coleta de amostras de garganta, vaginal, feridas, retal e fezes; o segundo contém um aplicador com uma ponta fina para a coleta de amostras em de difícil acesso como olhos, ouvido, nariz, rinofaringe, garganta e aparelho urogenital; o terceiro tipo contém um aplicador transnasal com ponta de fibra de nylon agrupadas para a coleta de amostras de nasofaringe ou para uso neonatal. Esses tres diferentes formatos de aplicadores facilitam a coleta das amostras de diferentes sítios. Verifique as descrições individuais do produto para informações específicas a respeito do material fornecido.

Todos os aplicadores fornecidos nos ESwab são dotados de um ponto de ruptura indicado por uma linha colorida; isso favorece a quebra do haste no interior do tubo de ensaio que contém o meio de transporte depois coleta.

Além disso, a forma particular do interior das tampas dos tubos de ensaio, em forma de funil, permite manter a haste do swab dentro do tubo depois da ruptura. Ao rosquear a tampa no tubo de ensaio, a ponta do haste será firmemente fixada na cavidade da tampa.

Ao abrir o tubo de ensaio no laboratório de análises, o aplicador ficará afixado à tampa e o operador poderá com facilidade tirar o swab do tubo de ensaio e efectuar as análises microbiológicas e utilizar a tampa para segurar o swab. Os swabs com ponta fina, transnasais, uretrales e pediátricos não são dotados de tampa com conformação de funil (481CE, 482CE, 483CE e 484CE); pois devido à extrema flexibilidade não seriam adequadamente fixados no interior da cavidade da tampa.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO INCLUIDOS

Não inclui os materiais para o isolamento e a cultura de bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas, nem os materiais para extrair e amplificar os antígenos e ácidos nucleicos bacterianos, virais e de Clamídias e dos como placas de petri ou tubos de ensaio para cultura, sistemas de incubação, jaras de microaerofilia ou anaeróbias. Quanto aos protocolos relativos às técnicas de cultura e identificação das bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas das amostras clínicas, referir-se aos manuais de laboratório (17, 18, 21, 22,43).

INSTRUÇÕES PARA USO

N. catálogo	Copan ESwab – Descrição produtos	Embalagem	Sítios de Coleta	Tampa de bloqueio
480CE 490CE.A	Embalagem estéril descartável para amostragem contendo: - Tubo de ensaio de polipropileno com tampa de rosca rosa e fundo cônico contendo 1 ml de meio de transporte líquido Amies. - Um swab de tamanho padrão com ponta de fibra de nylon macia.	Embalagem com 50 unidades 10x50 unidades por caixa	Nariz e Orofaringe, vagina feridas, reto e fezes	SIM
481CE 491CE.A	Embalagem estéril descartável para amostragem contendo: - Tubo de ensaio de polipropileno com tampa laranja e fundo cônico contendo 1 ml de meio de transporte Amies líquido. - Um swab com ponta fina de fibras de nylon macia.	Embalagem com 50 unidades 10x50 unidades por caixa	Olhos, nariz, rinofaringe, garganta, aparelho urogenital	NÃO
482CE	Embalagem estéril descartável para amostragem contendo: - Tubo de ensaio de polipropileno com tampa azul e fundo cônico contendo 1 ml de meio de transporte líquido Amies. - Um swab transnasal com ponta de fibras de nylon agrupadas.	Embalagem com 50 unidades 10x50 unidades por caixa	Rinofaringe, uso pediátrico	NÃO
483CE	Embalagem estéril descartável para amostragem contendo: - Tubo de ensaio de polipropileno com tampa laranja e fundo cônico contendo 1 ml de meio de transporte líquido Amies. - Um swab uretral com ponta de fibras de nylon agrupadas.	Embalagem com 50 unidades 10x50 unidades por caixa	Aparelho urogenital	NÃO
484CE	Embalagem estéril descartável para amostragem contendo: - Tubo de ensaio de polipropileno com tampa azul e fundo cônico contendo 1 ml de meio de transporte líquido Amies. - Um swab pediátrico com ponta de fibras de nylon agrupadas.	Embalagem com 50 unidades 10x50 unidades por caixa	Uso pediátrico	NÃO
493CE02	Dispositivo estéril descartável para amostragem contendo: - Tubo de ensaio de polipropileno com tampa rosca cor de rosa contendo 1ml de meio de transporte líquido Amies. - Um swab cor de rosa de tamanho padrão com ponta de nylon e um swab branco de tamanho padrão com ponta flocada de nylon	Embalagem com 50 unidades 10x50 unidades por caixa	Nariz, garganta, períneo	SIM
493CE03	Dispositivo estéril descartável para amostragem contendo: - Tubo de ensaio de polipropileno com tampa rosca cor de rosa contendo 1ml de meio de transporte líquido Amies . - dois swab cor de rosa de tamanho padrão com ponta flocada de nylon e um swab branco de tamanho padrão com ponta flocada de nylon	Embalagem com 50 unidades 10x50 unidades por caixa	Nariz, garganta, períneo	SIM

Para verificar a disponibilidade de outras versões do produto, consultar o nosso site: www.copaninnovation.com

¥ O teste de performance com o sistema Copan ESwab foi efetuado com cepas laboratoriais colocadas em um swab em conformidade com protocolos para testes indicados na norma do Clinical Laboratory Standards Institute M40-A (4). Não foram utilizadas amostras humanas.

Coleta das amostras

A coleta das amostras do paciente é extremamente crítica para o sucesso do isolamento e da identificação dos organismos infecciosos. Para instruções específicas sobre procedimentos de coleta, consultar os manuais de referência publicados (2, 17, 18, 20, 21, 22).

1. Abrir o cartucho ESwab e remover o tubo de ensaio e a embalagem de grau cirúrgico contendo o swab.
2. Tirar o aplicador da embalagem e proceder à coleta das amostras do paciente.
3. Abrir a tampa de maneira asséptica e tirá-la do tubo de ensaio.

4. Introduzir o swab no tubo de ensaio e cortar o haste no ponto indicado pela linha colorida. Colocar a parte cortada do haste num recipiente para resíduos biológicos.
5. Recolocar a tampa no tubo de ensaio fechando-a com força.
6. Escrever os dados do paciente na etiqueta do tubo de ensaio ou colar uma etiqueta de identificação paciente. Enviar as amostras para o laboratório de análise.

Para a coleta e o transporte das amostras microbiológicas, recomenda-se utilizar meios apropriados de protecção como luvas estéreis e óculos para proteger-se contra potenciais respingos ou aerossóis durante a ruptura do haste no tubo de ensaio.

Para os sistemas coleta Eswab MRSA códigos 493:

1. Abrir a embalagem contendo o tubo de transporte e os swab de coleta.
2. **Usar o swab cor de ROSA para colher a primeira amostra** (por ex.: garganta, períneo, nariz ou qualquer outro ponto de coleta) e abrir então o tubo de ensaio.
3. Inserir o swab usado para a coleta no meio de transporte Líquido Amies até atingir o fundo do tubo. **Imergir e agitar o swab por 5 segundos.**
4. **Extraí o swab** e aperta-lo 5 vezes contra as paredes do tubo de ensaio, acima do líquido, para liberar mais facilmente a amostra das fibras do swab. Retirar o swab e fechar o tubo de ensaio.
5. Jogar o swab cor de rosa no recipiente para resíduos biológicos.
6. **Utilizar o swab BRANCO para colher a última amostra** (por ex.: garganta, períneo, nariz ou qualquer ponto de coleta) e abrir então o tubo de ensaio.
7. **Inserir o swab no tubo de ensaio e parti-lo no interior do tubo de ensaio, no ponto de fractura.**
8. **Fechar o tubo de ensaio com o swab BRANCO dentro, referir os dados do paciente no tubo de ensaio e envia-lo ao laboratório para ser analisado.**

Repetir os pontos de 2 a 5 se o sistema de coleta Eswab MRSA **for composto por 2 swabs cor de rosa e utilizar o segundo swab cor de rosa para colher a segunda amostra** (por ex.: garganta, períneo, nariz ou qualquer outro ponto de coleta).

Do contrário proceder com o ponto 7.

O operador não deve tocar a zona sob a linha colorida impressa no aplicador, ou seja, a zona entre essa linha e a ponta do swab (Fig 3 Consultar o texto em inglês), para não contaminar a haste e não invalidar a cultura assim como os resultados das análises.

Como indicado na Fig 3 (Consultar o texto em inglês), o aplicador deve ser segurado antes da linha de ruptura. Após a coleta da amostra do paciente, o swab deve ser cortado no ponto indicado pela linha colorida, no interior do tubo de ensaio ESwab contendo o meio de transporte; depois disso, o operador deve colocar a parte cortada do haste num recipiente para resíduos biológicos e fechar o tubo de ensaio com a tampa. O rosqueamento da tampa no tubo de ensaio produz a fixação do swab na cavidade cônica da tampa (Fig 4 - consultar o texto em inglês) e fixa-o irreversivelmente.

Ao abrir o tubo no laboratório, o aplicador ficará afixado à tampa. Isso permite ao operador remover facilmente o swab e efectuar análises microbiológicas necessárias usando a tampa como apoio. Os swabs com ponta fina, transnasais, uretrales e pediátricos não são dotados de tampa com conformação de funil (481CE, 482CE, 483CE e 484CE); como eles são muito flexíveis, eles não conseguiriam ser fixados no interior da cavidade.

Inoculação em laboratório das culturas de amostras ESwab

Para a cultura bacteriológica das amostras ESwab, aconselha-se utilizar meios de cultura e técnicas laboratoriais adequadas às amostras e aos organismos os quais estão sendo analisados. Quanto aos meios culturas e técnicas de isolamento e identificação das bactérias dos swabs clínicos, referir-se aos manuais e aos guias publicados (17, 18, 21, 24, 25).

A análise das culturas de amostras, colectadas por meio do swab, destinada à busca de bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas como a *Neisseria gonorrhoeae* envolve normalmente uso de meio de cultura sólido em placas de Petri. O procedimento de inoculação das amostras ESwab nas placas de Petri é o seguinte:

OBS:: Para a manipulação das amostras clínicas, aconselha-se utilizar luvas e outros meios de protecção individual. Respeitar o nível de biossegurança 2 estabelecido pelo CDC (34, 35, 36, 37).

1. Agitar vigorosamente durante 5 segundos o tubo de ensaio ESwab que contém o swab, segurando-o entre o polegar e o indicador, ou agitá-lo durante 5 segundos num agitador de tubos para separar a amostra do swab e dispersá-la no líquido de maneira uniforme.
2. Se a análise inclui investigações moleculares, transferir parte da amostra para um tubo de ensaio estéril.
3. Abrir a tampa z do Eswab e tirar o aplicador de dentro do tubo.
4. Rolar a ponta do swab na superfície de um quadrante da placa de cultura para inóculo primário.
5. Caso seja necessário inserir a amostra numa segunda placa de cultura, colocar de novo o aplicador Eswab no tubo de ensaio durante 2 segundos para absorver a suspensão composta pelo meio de transporte e a amostra do paciente e repetir o procedimento n. 3.
6. Caso seja necessário inocular placas adicionais retorne o aplicador Eswab para o tubo de transporte contendo a suspensão de amostra do paciente antes de inocular cada uma das placas.

No procedimento descrito acima utilize o aplicador ESwab é utilizado para transferir a suspensão de amostra do paciente na placa de cultura formando o inóculo primário (Fig.5 Consultar o texto em inglês). Como alternativa, o operador pode agitar o tubo de ensaio contendo o swab num agitador de tubos durante 5 segundos; após disso, transferir 100µL da suspensão nas placas de cultura individuais por meio de uma pipeta volumétrica com ponta estéril. Para fazer o inóculo primário da amostra do paciente sobre a superfície da placa, seguir os procedimentos padrão de laboratório (Fig 6 Consultar o texto em inglês).

Os swabs com ponta fina, transnasais, uretrales e pediátricos não são dotados de tampa com conformação de funil (481CE, 482CE, 483CE e 484CE); como eles são muito flexíveis, eles não conseguiriam ser fixados no interior da cavidade, por isso o operador deverá agitar o tubo de transporte Eswab em um agitador de tubos por 5 segundos e transferir 100µL da suspensão utilizando uma pipeta automática com ponta esteril e seguir com os procedimentos padrão.

Como procesar ESwab con un sistema automatizado

Algunas torundas ESwab pueden ser procesadas con sistemas automatizados. Se ruega leer atentamente las instrucciones del fabricante del autómata para procesar dichas ESwab. Debido a la flexibilidad del tallo de las torundas minitip, pernasal, uretral y pediátrica (481CE, 482CE, 483CE y 484CE), usar pinzas para extraer el aplicador del tubo antes de introducirlo en la máquina, pues podría interferir en el normal funcionamiento del autómata.

Preparação do esfregaço das amostras ESwab para Coloração de Gram

A análise de laboratório das amostras clínicas coletadas em determinados sítios do paciente pode incluir o exame microscópico de preparações coradas (esfregaço directo) por meio do procedimento de coloração de Gram. Esse procedimento fornece informações importantes aos médicos que tratam pacientes afectados por doenças infecciosas (26) Em muitos casos, a coloração de Gram pode fornecer um suporte muito válido para elaborar diagnósticos; por exemplo, swabs coletados da endocervix ou da uretra de pacientes suspeitos de infecções por *Neisseria gonorrhoeae*, ou swab vaginais para diagnóstico da vaginose bacteriana (27, 28, 29, 30, 31, 39). A coloração de Gram pode também ajudar com a avaliação da qualidade da amostra e favorecer a escolha do meio de cultura, sobretudo em presença de flora bacteriana mista (32)

A amostra transportada no líquido de eluição do Eswab representa uma suspensão homogénea em fase líquida. Pode ser uniformemente distribuída na lâmina de vidro, permitindo uma leitura fácil e clara da mesma.

Uma alíquota das amostras transportadas com o sistema Copan ESwab podem ser transferidas para uma lâmina de vidro para preparar a coloração de Gram, como indicado abaixo, (21, 32).

OBS: Para a manipulação das amostras clínicas, aconselha-se utilizar luvas e outros meios de protecção individual. Respeitar o nível de biossegurança 2 estabelecido pelo CDC (34, 35, 36, 37).

1. Posicionar uma lamina de vidro para microscópio em uma superfície plana e delimitar a área de inoculação da amostra.

Nota: pode-se utilizar uma lâmina de vidro com área circular pré marcada e diâmetro de 20 mm.

2. Agitar o tubo de ensaio ESwab utilizando-se um agitador de tubos durante 5 segundos para separar a amostra do swab e dispersá-la no meio Amies líquido de maneira uniforme..
 3. Tirar a tampa do tubo de ensaio ESwab e, utilizando-se uma pipeta estéril, transferir 1-2 gotas de meio líquido Amies na zona demarcada na lâmina de microscópio.
- Nota : 30 ul aproximadamente constituiria um volume de suspensão de Amies Líquido adequado para a lâmina de vidro com área circular pré marcada e diâmetro de 20 mm
4. Deixar enxugar a amostra na lâmina de vidro em temperatura ambiente, ou metê-la num pequeno forno eléctrico de secagem seleccionando uma temperatura não superior aos 42°C.
 5. Fixar com uso de metanol. Recomenda-se a fixação com metanol, pois ela impede a lise dos Glóbulos Vermelhos, evita de prejudicar todas as células hóspedes e permite obter um background mais limpo (21, 26, 32).
 6. Quanto ao teste de coloração Gram, seguir os manuais de laboratório. Utilizar reagentes Gram disponíveis no mercado, recomenda-se seguir as instruções do fabricante.

Para informações adicionais ou instruções sobre a preparação das lâminas para análise microscópica, sobre a coloração Gram e sobre a interpretação e descrição das análises microscópicas, aconselha-se consultar os manuais de laboratório (20, 24, 25, 26, 32

Processamento de amostras ESwab para realizar análises moleculares em laboratório

Amostras recebidas no laboratório para detecção de ácidos nucleicos devem ser processadas logo ao chegar no laboratório. Em caso de atraso, seguir as condições de conservação apropriadas.

OBS: Para a manipulação das amostras clínicas, aconselha-se utilizar luvas e outros meios de protecção individual. Respeitar o nível de biosegurança 2 estabelecido pelo CDC (34, 35, 36, 37).

Ao utilizar métodos moleculares, tomar as precauções necessárias para evitar contaminação cruzada. O distanciamento dos espaços de trabalho e um fluxo de trabalho unidireccional são elementos fundamentais para prevenir a contaminação cruzada da amostra(42).

1. Agitar durante 10 segundos o tubo de ensaio ESwab num agitador de tubos, abrir a tampa e, segurando-a entre o polegar e o indicador, agita-la para extrair da ponta a maior quantidade possível de líquido. Os swabs com ponta fina, transnasais, uretrales e pediátricos não são dotados de tampa com conformação de funil (481CE, 482CE, 483CE e 484CE); como eles são muito flexíveis, eles não conseguiriam ser fixados no interior da cavidade. Neste caso, tirar o aplicador do tubo de ensaio utilizando-se uma pinça
2. Descartar o swab e transferir a quantidade apropriada de amostra para um tubo de extracção seguindo os procedimentos operacionais padrão de laboratório.
3. O sistema Eswab foi validado com os seguintes métodos de extracção: membrana de sílica gel, esferas magnéticas, extracção orgânica e térmica. Outras técnicas também poderão ser utilizadas, após validação.
4. Caso a extracção não seja possível, conservar as amostras ESwab a -20°C.
5. O sistema Eswab foi validado com métodos de amplificação.

Processamento das amostras ESwab para realizar testes rápidos para antígenos em laboratório

1. Agitar o tubo de ensaio ESwab durante 10 segundos num agitador de tubos,
2. Utilizar a amostra de fluido ou o swab e efectuar o teste respeitando as indicações especiais do kit e respeitando os procedimentos operacionais padrão de laboratório. Os swabs com ponta fina, transnasais, uretrales e pediátricos não são dotados de tampa com conformação de funil (481CE, 482CE, 483CE e 484CE); como eles são muito flexíveis, eles não conseguiriam ser fixados no interior da cavidade. Extrair o aplicador do tubo de ensaio utilizando-se uma pinça.

CONTROLE DE QUALIDADE

Todos os lotes do sistema ESwab são submetidos à prova de esterilidade, presença de nuclease e inibidores e todos os lotes de swabs são testados para assegurar que não sejam tóxicos para as bactérias. Quanto ao meio de transporte líquido Amies, é testado para estabilidade do pH e contaminação bacteriana é verificada através da análise microscópica da coloração Gram para estabelecer os níveis aceitáveis indicados no documento M40-A do Clinical Laboratory Standards Institute (4).

Antes da aprovação final, cada lote de ESwab é submetido a controles da qualidade para verificar a capacidade de viabilidade de bactérias durante determinados períodos de tempo, quer a temperaturas de refrigeração (4-8°C), quer a temperatura ambiente controlada (20-25°C), com um painel de bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas por meio de métodos Roll-Plate e Swab Elution (4). As análises da viabilidade incluem também exames do crescimento excessivo das bactérias a temperaturas de refrigeração (4-8°C); num período especificado, devendo corresponder a um crescimento ≤ 1 log. Cada lote de produção de ESwab é analisado para determinar qualquer atividade enzimática inibitória que poderia impedir a amplificação dos ácidos nucleicos. DNase e RNase são enzimas que degradam os ácidos nucleicos e impedem a sua correcta amplificação. A presença de DNase e RNase durante o transporte e conservação da amostra poderia produzir resultados falso-negativos. O teste consiste em agregar ao meio de transporte ESwab uma quantidade específica de DNA ou RNA (escala Kb) e subsequentemente analisar o nível de integridade do DNA e RNA.

Os procedimentos para controle de qualidade dos dispositivos de transporte bacteriológico realizados com métodos Roll-Plate e Swab Elution estão descritos no documento M40-A do Clinical Laboratory Standards Institute e outras publicações (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Caso os controles da qualidade produzam resultados aberrantes, os resultados da análise não devem ser reportados.

LIMITAÇÕES

1. Durante a manipulação das amostras clínicas no laboratório, aconselha-se utilizar luvas e outros meios de protecção individual. Durante a manipulação das amostras de pacientes, respeitar o nível de biosegurança 2 estabelecido pelo CDC (34, 35, 36, 37).
2. O uso do sistema ESwab para coleta de amostras do aparelho urogenital de mulheres grávidas não foi submetido a avaliação.
3. A condição, a tempo e o volume da amostra coletada constituem variáveis muito importantes para a confiabilidade do resultado. Recomenda-se seguir os processos para a coleta das amostras (2, 3, 17, 18, 20, 21, 24).
4. O sistema ESwab utiliza-se para a amostragem e o transporte de bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas como a Neisseria gonorrhoeae, e para a busca rápida de antígenos e ácidos nucleicos bacterianos, virais e de Clamídias. Este produto não é destinado à conservação da viabilidade dos vírus e de Clamídias.
5. O sistema ESwab deve ser utilizado com os tubos de ensaio para transporte ou com os swabs contidos no cartucho. O uso de tubos de ensaio e swabs de outra origem poderia influenciar a performance do produto e o resultado da análise.
6. O sistema ESwab foi validado por meio dos seguintes métodos de extracção: membrana de sílica gel, esferas magnéticas, extracção orgânica e térmica. O uso de outras técnicas não permitidas, após validação.
7. Após extracção do DNA, uma porção de meio ESwab pode ser amplificada sem a fase de purificação. Neste caso, aconselha-se diluir o meio ESwab em 1:5.

ADVERTÊNCIAS

-  Este produto destina-se apenas a uma única utilização; a reutilização poderá causar um risco de infecção e/o resultados imprecisos.
- Não re-esterilizar swabs não utilizados.
- Não re-embalar.
- Não utilizar o sistema para coleta e transporte de microrganismos diferentes dos que especificados (aeróbio, anaeróbios e bactérias fastidiosas).
- Não utilizar para aplicações diversas das que estabelecidas.
- O uso desse produto com kit de diagnóstico rápido ou com instrumentos diagnósticos deve ser validado previamente pelo usuário.
- Não utilizar em caso de claros sinais de dano (ex. ponta ou haste quebradas)
- Não utilize força excessiva ou pressão no momento da coleta as quais poderiam resultar na quebra da haste do swab
- O swab aplicador é classificado como dispositivo médico de Classe IIa, em conformidade com a Directiva Europeia 93/42/CEE sobre a utilização de Dispositivos Médicos cirurgicamente invasivos. Esta classificação indica que os swabs podem ser utilizados para efectuar investigações nas superfícies e orifícios do corpo humano (ex. nariz, garganta, vagina e feridas profundas)
- Não ingerir o meio de transporte.
- Seguir rigorosamente as instruções de uso. O fabricante não pode se responsabilizar por uso indevido ou não autorizado do produto
- O produto deve ser manipulado exclusivamente por pessoal habilitado.

- Os swabs com ponta fina, transnasais, uretrales e pediátricos não são dotados de tampa com conformação de funil (481CE, 482CE, 483CE e 484CE); como eles são muito flexíveis, eles não conseguiriam ser fixados no interior da cavidade.
- Deve-se assumir que toda amostra contém microrganismos infecciosos; portanto, recomenda-se a máxima cautela. Após uso, os tubos de ensaio e os swabs devem ser eliminados em conformidade com as práticas de laboratório sobre os resíduos biológicos. Respeitar o nível de biossegurança 2 estabelecido pelo CDC (34, 35, 36, 37).
- Não utilizar o meio de transporte ESwab para umedecer o aplicador antes da coleta, para limpar ou irrigar os locais de coleta.

RESULTADOS

Os resultados dependem muito da adequação das operações de coleta, transporte e análise em laboratório.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

Num laboratório clínico de rotina o método mais utilizado para inoculação de dispositivos de transporte num meio em placa é o Roll-Plate. O limite deste método (4) utilizado para verificar a viabilidade das bactérias é que não constitui um método quantitativo, senão semi-quantitativo. Por outro lado, outros métodos quantitativos como Swab Elution (4) não refletem o protocolo padrão utilizado na maior parte dos laboratórios. Enquanto o método Swab Elution permite a medida quantitativa da capacidade do sistema de transporte manter viável os organismos, a técnica Roll-Plate leva em consideração algumas variáveis mecânicas do uso directo de swabs em laboratório; esta ação pode influenciar a liberação das amostras nas placas de cultura. Por isso, ambos os métodos de estudo de viabilidade foram utilizados para determinar as características de performance do sistema ESwab.

Os procedimentos de ensaio utilizados para determinar a performance de viabilidade das bactérias baseiam-se nos métodos de controle de qualidade descritos no documento M40-A do Clinical Laboratory Standards Institute (4, 10, 12, 14, 15, 40, 41). Os organismos de ensaio utilizados são aqueles especificamente indicados pelo documento M40-A para estabelecer as indicações de performance e o controle da qualidade dos métodos de transporte com swab e incluem um painel representativo de bactérias aeróbias, anaeróbias e fastidiosas. Um grupo adicional de organismos não requeridos ou especificados pelo documento M40 foi também testado para fornecer dados complementares sobre a sobrevivência de determinadas bactérias.

Estudos sobre a viabilidade bacteriana no sistema Copan ESwab foram também efectuados em dois diferentes intervalos de temperatura, 4-8°C e 20-25°C, que correspondem à temperatura de refrigeração e à temperatura ambiente controlada respectivamente. Os swabs que equipam cada sistema de transporte foram inoculados em triplicata com 100 µl de concentrações de organismos em suspensão. Em seguida, os swabs foram colocados nos respectivos tubos de transporte e conservados durante 0h, 24h e 48 horas. Cada swab foi analisado neste intervalo por meio do método Roll-Plate ou Swab Elution.

O Sistema de coleta e transporte ESwab é capaz de manter o DNA, RNA e os antígenos bacterianos, virais e da Clamídia durante 5 dias quando armazenados em temperatura ambiente controlada (20 a 25°C); 7 dias se armazenado a 4°C; e com refrigeração a -20°C, durante 6 meses.

ESwab é livre de contaminação por enzimas DNase e RNase que interferem com o processo de amplificação.

Os organismos analisados foram divididos em 3 grupos (ver nota abaixo):

1. Aeróbios e anaeróbios facultativos:

Pseudomonas aeruginosa ATCC® BAA-427, *Streptococcus pyogenes* ATCC® 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 6305, *Haemophilus influenzae* ATCC® 10211.

2. Anaeróbios:

Bacteroides fragilis ATCC® 25285, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC® 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC® 25586, *Propionibacterium acnes* ATCC® 6919, *Prevotella melaninogenica* ATCC® 25845.

3. Bactérias fastidiosas:

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 43069.

Outros organismos avaliados:

Enterococcus faecalis (Vancomycin resistant Enterococcus VRE) ATCC® 51299, *Staphylococcus aureus* (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* MRSA) ATCC® 43300, *Streptococcus agalactiae* (Streptococcus do Grupo B) ATCC® 13813, *Clostridium perfringens* ATCC® 13124, *Clostridium sporogenes* ATCC® 3584, *Fusobacterium necrophorum* ATCC® 25286, *Peptococcus magnus* ATCC® 29328.

OBSERVAÇÕES

Para afirmações relativas à performance do produto e testes de viabilidade, as bactérias são divididas em 3 grupos em conformidade com o documento M40-A (4) do Clinical Laboratory Institute segundo a sua resposta de crescimento em atmosfera de oxigénio:

1. Aeróbios e anaeróbios facultativos

Para se manterem vivos, as bactérias aeróbias precisam de ar ou de oxigénio livre. As bactérias anaeróbias facultativas podem sobreviver seja na presença ou na ausência de oxigénio. Muitas bactérias aeróbias são bactérias anaeróbias facultativas, o que significa que elas são capazes de crescer e sobreviver em ausência de oxigénio. Por isso, o grupo de bactérias aeróbias inclui a descrição das bactérias anaeróbias facultativas.

2. Anaeróbias:

Para se manterem vivos, as bactérias anaeróbias não precisam de ar nem oxigénio livre. Este grupo inclui bactérias anaeróbias obrigatórias que só podem viver na ausência de oxigénio.

3. Bactérias fastidiosas.

As bactérias fastidiosas precisam de condições complexas ou exactas para crescer e o representante principal deste grupo é a *Neisseria gonorrhoeae*.

Em conformidade com o documento M40-A do Clinical Laboratory Standards Institute, à exceção da *Neisseria gonorrhoeae*, as viabilidades de cada organismo de ensaio são verificadas ao tempo de 48 horas e confrontadas com os critérios de aceitação. Quanto à *Neisseria gonorrhoeae*, as condições de viabilidade são medidas a 24 horas. Com ambos os métodos Roll-Plate e Swab Elution, o sistema Copan ESwab conseguiu manter uma recuperação bacteriana aceitável de todos os organismos avaliados, seja a temperaturas de refrigeração (4-8°C) ou a temperatura ambiente controlada (20-25°C). Com o método Roll-Plate, a recuperação aceitável coloca-se a ≥ 5 CFU além do tempo de conservação especificado da diluição que produziu uma contagem em placa a tempo zero próxima de 300 CFU. Com o método Swab Elution a recuperação aceitável coloca-se a um declínio de CFU não superior de $3 \log_{10}$ ($1 \times 10^3 \pm 10\%$) entre a contagem a tempo zero e o CFU nos swabs além do tempo de conservação especificado.

Os estudos de viabilidade incluem também a verificação do crescimento excessivo bacteriano a temperaturas refrigeradas (4-8°C).

No método Swab Elution a verificação do crescimento excessivo é efectuado em todas as bactérias testadas a um tempo de conservação de 48 horas, à excepção da *Neisseria gonorrhoeae* testada a 24 horas. A verificação do crescimento excessivo no método Swab Elution é definida como maior que $1 \log_{10}$ de aumento entre a contagem a tempo zero e o período de conservação. No método Roll-Plate esta verificação é efectuada por meio de uma análise separada

na qual os swabs são dosados com 100 µl que contém 10^2 CFU de cultura de *Pseudomonas aeruginosa*. Nestas condições, o crescimento excessivo é definido como maior de um incremento de CFU de $1 \log_{10}$ entre a contagem a tempo zero e o tempo de conservação de 48 horas. O sistema de coleta e transporte Copan ESwab não apresentou crescimento excessivo em ambos os métodos segundo os critérios de aceitação descritos no documento M40-4 do Clinical Laboratory Standards Institute.

BIBLIOGRAPHY

1. Amies CR. A modified formula for the preparation of Stuart's medium. Canadian Journal of Public Health, July 1967. Vol. 58, 296 – 300.

2. Miller JM. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology. Second Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC. 1999.

3. Miller JM, Holmes HT. Specimen collection, transport and storage. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Yolenk RH, eds. Washington, DV: ASM; 1995:19-20.

4. Clinical Laboratory Standards Institute CLSI (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCLS). 2003. Quality Control of Microbiological Transport Systems: Approved Standard. M40-A Vol. 23 No. 34.

5. 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.

6. Sun Y, Taylor T, Williams L, Sauter 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.

7. 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.

8. 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.

9. Wilson DA, Tushy 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.

10. 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.

11. 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.

12. 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.

13. 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.

14. 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.

15. Human RP, Jones GA. Evaluation of swab transport systems against a published standard. *J Clin Pathol* 2004; 57:762-763.

16. 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.

17. Isenberg HD, Cumitech 9. Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating editor, S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1979.

18. Koreman EW, Allen SD, Janda VM, Schreckenberger PC and Winn, Jr. WC. 1992. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 4th ed. J.B. Lippincott Co. Philadelphia, PA.

19. 42CFR72. Code of Federal Regulations, Title 42, Volume 1, Part 72. Interstate Shipment of Etiologic Agents.

20. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 1998. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 10th ed. Mosby, St. Louis, MO.

21. Isenberg HD. 2004. Clinical Microbiology Procedures Handbook, 2nd ed. ASM, Washington, DC.

22. Isenberg HD. 1998. Essential Procedures for Clinical Microbiology. Chapter 14.12, Page 787. Packaging and Shipping Infectious Substances. ASM, Washington, DC.

23. Clinical Laboratory Standards Institute CLSI (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards NCCLS). 1994. Procedures for Handling and Transport of Diagnostic Specimens and Etiologic Agents; Approved Standard M43.

24. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. eds. Manual of Clinical Microbiology, 7th edition. Washington, DC: ASM; 1999.

25. Summanen P, Baron EJ, Clifton D, Strong C, Wexler HM, Finegold SM. (1993). Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual, 5th ed. Star Publishing Company, Belmont, CA.

26. Marler LM, Siders JA, Allen SD. Direct Smear Atlas, A Monograph of Gram-Stained Preparations of Clinical Specimens. Lippincott Williams and Wilkins, 2001.

27. 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.

28. 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.

29. 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.

30. Mayaud P, Msuya W, Todd J, Kasatano 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.

31. Decouinck G, Asamoah-Adu C, Konde N, Papin J, Frost EH, Deslandes S, Asamoah-Adu A, Bekoe V, Alary M. Improvement of clinical algorithms for the diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* by the use of Gram-stained smears among female sex workers in Accra, Ghana. *Sex Transm Dis*. 2000 Aug;27 (7):401-10.

32. Isenberg HD. 1998. Essential Procedures for Clinical Microbiology. Chapter 2.1, Page 41. Gram Stain. ASM, Washington, DC.

33. Isenberg HD. 1998. Essential Procedures for Clinical Microbiology. Chapter 1.1, Page 27. Collection, Transport and Manipulation of Clinical Specimens. Procedure for streaking plates for primary isolation. ASM, Washington, DC.

34. Fleming D. Biological Safety: Principles and Practices. January 2000. ASM, Washington DC.

35. 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>.

36. Richardson JH. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. December 1994. Diane Publishing Company.

37. Hansen DJ. Healthcare, Laboratories and Biosafety. Vol 2. 1992. CRC Press.

38. Greenberg AE, Clesceri LS, and Eaton AD. 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.

39. Washington JA. 1986. Rapid diagnosis by microscopy. *Clin. Microbiol. Newsl*. 8:135-137.

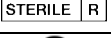
40. Van Horn KG, Rankin R. Evaluation and comparison of two Stuart's Liquid Swab transport systems tested by the NCCLS M40 method. 105th General Meeting of the American Society for Microbiology. 2005; Atlanta, Georgia. Abstract C-292.

41. Bourbeau PP, Heller BJ. Validation of QC standard for bacteriological transport devices as specified in the NCCLS Proposed Standard M40: Quality Control of Microbiological Transport Systems. 103rd General Meeting of the American Society for Microbiology. 2003; Washington, DC. Abstract C-46.

42. The Nucleic Acid Amplification Assays for the Molecular Hematopathology; approved Guideline (NCCLS MM5-A Volume 23 No 17)

43. Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods: Proposed guideline. CLSI (MM13-P volume 25 No 9)

Index of Symbols/Table des Symboles/Symbole/Tabla de Símbolos/Tabella dei Simboli/Quadro de Símbolos

Symbol/Symbole/Simbolo	Meaning/Signification/Bedeutung/Significado/Significato/Significado
	Manufacturer/Fabricant/Hersteller/Fabricante/Fabbricante/Fabricante
	Identification number of notified body/Identification de l'organisme notifié/Identifizierung der benannten Stelle/Identificación del organismo notificado/Identificazione dell'organismo notificato/Identificação do organismo notificado
	Sterile – Method using irradiation/Stérile – Stérilisation par rayonnements/Sterilisation durch Bestrahlung/Método de esterilización utilizando irradiación/Sterile-Metodo di sterilizzazione con radiazioni ionizzanti/Estéril-Esterilização por irradiação
	Do no reuse/Ne pas réutiliser/Nicht zur Wiederverwendung/No reutilizar/Non riutilizzare/Não voltar a usar
	Catalogue number/Référence du catalogue/Bestellnummer/Número de catálogo/Numero di catalogo/Referência do catálogo
	Temperature limitation/Limites de temperature/Temperaturbegrenzung/Limites de temperatura/Limiti di temperatura/Limites de temperatura
	Use by/Utiliser jusque/Verwendbar bis/Fecha de caducidad/Utilizzare entro/Prazo de validade
	Consult Instructions for Use/Consulter les instructions d'utilisation/Gebrauchsanweisung beachten/Consulte las instrucciones de uso/Consultare le istruzioni per l'uso/Consultar as instruções de utilização
	Peel/Décoller/Abziehen/Desprender/Strappare per aprire/Destacável
	Batch code (Lot)/Code de lot (Lot)/Chargencode (Chagenbezeichnung)/Código de lote (Lote)/Codice del lotto (partita)/ Código do lote (Lote)
	Contains sufficient for <n> tests/Contenu suffisant pour <n> tests/Ausreichend für <n> Tests/Contenido suficiente para <n> pruebas/Contenuto sufficiente per <n> test/Contênto suficiente para <n> testes



Copan Italia
Via Perotti, 10
Brescia, Italy

Copan Italia Spa
Via Perotti 10
25125 Brescia Italy

Tel: +39 030 2687211
Fax: +39 030 2687250
E-mail: info@copanitalia.com
Website: www.copaninnovation.com



Additional translations of ESwab product insert may be available for download on our website:
www.copaninnovation.com