



eNAT®

CE 0123

HPC210 Rev.00 Date 2020.11

ENGLISH

Copan eNAT® Molecular Collection and Preservation Medium

Instructions for use

INTENDED USE

Copan eNAT® - molecular collection and preservation medium- is intended for the stabilization, transportation and inactivation of an unprocessed upper respiratory clinical specimen suspected of containing influenza A virus RNA. eNAT® - molecular collection and preservation medium- is intended for use with compatible molecular assays.

SUMMARY AND PRINCIPLES

The primary purpose of nucleic acids amplification techniques is to screen for a wide range of infectious diseases, so nucleic acid integrity of clinical specimens during transport and storage should be preserved (1-5). eNAT® medium contains a detergent and a protein denaturant to prevent microbial proliferation, thus eNAT® is not intended to be used for culture-based techniques.

PRODUCT DESCRIPTION

eNAT® appears clear and transparent and is ready to use. It is available in the following product configurations:

CODE	DESCRIPTION
6U073S01	12mm x 80mm screw cap tube containing 2 mL of eNAT® molecular collection and preservation medium plus one regular flocced nylon fiber swab
6U074S01	12mm x 80mm screw cap tube containing 2 mL of eNAT® molecular collection and preservation medium plus one minitip flocced nylon fiber swab

REAGENTS

eNAT® molecular collection and preservation medium contains:

- Guanidine thiocyanate
- Tris-EDTA
- HEPES
- Detergent

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. eNAT® is for professional use only.
2. For *in vitro* diagnostic use. For single use. Do not re-sterilize or reuse.
3. eNAT® medium is not for external or internal use in humans or animals.
4. eNAT® contains a cell lysing agent, so a pelleting procedure is not recommended for nucleic acid concentration.
- 5.



Danger

Contains Guanidine thiocyanate.

H302 Harmful if swallowed

H314 Causes severe skin burns and eye damage

H412 Harmful to aquatic life with long lasting effects

P264 Wash hands thoroughly after handling

P273 Avoid release to the environment

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection

P301+P330+P331 IF SWALLOWED: rinse mouth. Do not induce vomiting

P303+P361+P353+P310 IF ON SKIN (or hair): remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.

Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician.

P305+P351+P338+P310 IF IN EYES: rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if present and easy to do – continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER/doctor

EUH032 Contact with acids liberates very toxic gas

MSDS available on request from Copan Italia S.p.A. via F. Perotti 10, 25125 Brescia Italy.

6. Avoid contact of eNAT® medium with skin, mucous membranes. If contact occurs, immediately rinse with copious amounts of water.
7. Avoid direct contact between guanidine thiocyanate and sodium hypochlorite (bleach) or other highly reactive reagents such as acids and bases. These mixtures could release noxious gas.

- Performance characteristics for stabilization and inactivation of viruses other than influenza A have not been studied.
- Check the version of the operating instructions. The correct version is the one supplied with the device or available in electronic format, and can be identified by the e-IFU indicator on the packaging label.

DEVICE STORAGE

Store and transport at 2-25°C. Do not overheat, incubate or freeze prior to use. Improper storage will result in a loss of efficacy. Do not use after the expiration date.

PRODUCT DETERIORATION

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

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

Appropriate materials and reagents for molecular testing are not supplied. Refer to the molecular assay manufacturer's package insert for recommended materials, protocols and assay techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

Specimen collection, transport and storage

Analytical results are dependent on proper specimen collection, transport and storage conditions, and processing in the laboratory. Specimens should be collected or observed by qualified medical personal. Follow biohazard precautions and aseptic technique when collecting specimens. For specific guidance regarding specimen collection procedures consult published standard collection manuals ^(6,7).

Do not use eNAT® medium for pre-moistening or pre-wetting the sampling device prior collecting the sample or for rinsing or irrigating the sampling site.

- After collecting the specimen, unscrew and remove the cap from eNAT® tube taking care not to spill the medium.
- Use the swab to collect the sample from the patient. To avoid risk of contamination, make sure that the swab tip comes into contact only with the sampling site.
- Insert the swab into the tube until the breaking point (if present) reaches the level of the opening of the tube (Fig. 1).
- Bend the swab shaft at a 180 degrees angle to break it off at the breaking point holding the tube away from the face. If needed, gently rotate the swab shaft to complete the breakage and discard the upper part of the swab shaft (Fig. 2a e 2b). If the swab used does not have a breakpoint, cut off the excess part of the shaft.
- Replace the cap on the tube and close tightly (Fig. 3).
- Write patient information on the tube label or apply patient identification label (Fig. 4).
- Send the specimen to the testing laboratory (8,9). Transport at 2-25°C or according to your internal laboratory protocols.

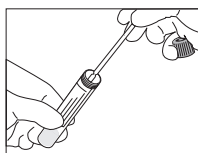


Fig. 1

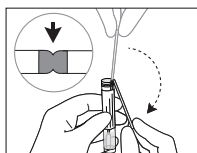


Fig. 2a

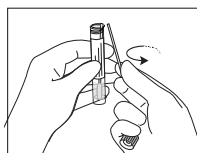


Fig. 2b

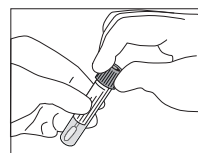


Fig. 3

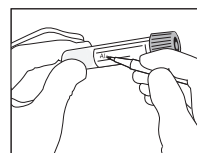


Fig. 4

Use in the laboratory

Processing eNAT® specimens for molecular testing in the laboratory.

Specimens for nucleic acid detection should be promptly processed when received in the laboratory.

Specimens preserved in eNAT® medium may need to be extracted and purified before amplification.

- Wear gloves and other protection commensurate with standard precautions when handling clinical specimens ⁽¹⁰⁾.
- When working with NAAT assays, care should be taken to prevent carry over contamination. Spatial separation of working areas and unidirectional workflow are recommended to prevent amplicon carry-over.
- Vortex eNAT® specimen tube for 10s. Viscous samples may require additional vortexing.
- If foam appears after vortexing, wait a few seconds before opening the tube. Perform the molecular assay in accordance with the manufacturer's package insert.

DISPOSAL

Dispose of waste in accordance with laboratory procedure and local legislation. Take the appropriate precautions for infected material if necessary.

LIMITATIONS:

- Performance characteristics of eNAT® have been demonstrated for only Influenza RNA.
- The user is responsible for validating eNAT® with all diagnostic assays.
- Performance characteristics of eNAT® have only been demonstrated for Influenza RNA from swabs.
- The user is responsible for establishing appropriate system performance characteristics for all specimen types.

- The eNAT[®] system is a collection, preservation, transport, and storage system for Influenza RNA. Extraction and purification of nucleic acids have been validated on the Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV Assay. The user is responsible for validating additional extraction and purification kits.

QUALITY CONTROL

eNAT[®] medium is verified to inactivate influenza A and to preserve influenza A RNA when stored at 2-25°C.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

An inactivation study was conducted to verify that eNAT[®] inactivates Flu A virus. High concentrations of Flu A (H3N2 strain A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) in simulated nasal matrix were inoculated in eNAT[®] using Copan's FLOQSwabs[®]. In particular, the swab was dipped into the infected matrix and used to transfer the sample into eNAT[®]. The viability of the virus was measured after 10 seconds in eNAT[®] medium by inoculating aliquots of medium onto MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) cell lines, incubating for four days and measuring the cytopathic effect (CPE) possibly caused by the virus. The results for the inactivation study (Table 1) confirmed > 4.0 log reduction in Flu A titer in 10 seconds.

Table 1: Summary of influenza A inactivation study results

Sample	Viral load after 10s incubation	Log. reduction
CTRL+ (Flu A only)	3.16*10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	n/a
Flu A in eNAT [®]	≤ 10 ³ TCID ₅₀ /ml	4.5

An analytical sensitivity study was conducted to determine the Flu A (H3N2 strain A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) limit of detection (LoD) obtained by eNAT[®] in combination with the Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV assay. eNAT[®] medium has reached the LoD, within the range of TCID₅₀/ml declared by the Xpress Flu/RSV assay⁽¹¹⁾ (0.75 – 0.006 TCID₅₀/ml in the matrix) for Flu A H3N2 detection (Table 2) (Flu A 1 channel results shown).

Table 2: Summary of results obtained at the dilution corresponding to 0.180 TCID₅₀/ml (in matrix) during the Analytical Sensitivity Study using Xpert Xpress Flu/RSV assay

	eNAT [®] samples
N° of positive replicates	24/24
Average PCR Ct obtained	34.4
Standard deviation	0.93

A stability study was designed to demonstrate that RNA from Flu A (H3N2 strain A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) is preserved and stable in eNAT[®] medium. The stability of Flu A RNA in eNAT[®] was tested with the Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV Assay. The results (Table 3) (Flu A 1 channel results shown) confirmed RNA stability in eNAT[®] for 4 weeks at both 2-8°C and 25°C storage.

Table 3: Flu A data in eNAT[®] at time zero and after 4 weeks at 2-8°C and 25°C

eNAT [®] samples		Results
Time zero	N° of positive replicates	24/24
	Average of PCR Cts	30.8
	STD.	0.40
4 weeks at 2-8°C	N° of positive replicates	24/24
	Average of PCR Cts	30.6
	STD.	0.20
	ΔCt 4w-T0	-0.2
4 weeks at 25°C	N° of positive replicates	24/24
	Average of PCR Cts	30.7
	STD.	0.28
	ΔCt 4w-T0	-0.1

CONCLUSION

eNAT[®] medium has been shown to inactivate influenza A virus in 10 seconds.

eNAT[®] medium preserves influenza A virus RNA for up to 4 weeks when stored at 2-25°C.

eNAT[®] medium performance characteristics for influenza A stabilization have been determined with the Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV Assay. Other extraction and amplification methods may also be applicable with prior validation.

Performance testing with eNAT[®] was conducted using laboratory strains in a simulated nasal matrix spiked onto a swab. Performance testing was not conducted using human specimens.

ITALIANO

Terreno di raccolta e conservazione molecolare eNAT[®] Copan

Istruzioni per l'uso

UTILIZZO PREVISTO

eNAT[®], terreno di raccolta e conservazione molecolare, di Copan è destinato alla stabilizzazione, al trasporto e all'inattivazione di un campione clinico non trattato delle vie respiratorie superiori che si sospetta contenere RNA del virus dell'influenza A. eNAT[®], terreno di raccolta e conservazione molecolare, è destinato all'uso con saggi molecolari compatibili.

SINTESI E PRINCIPI

Lo scopo principale delle tecniche di amplificazione degli acidi nucleici è quello di effettuare uno screening per una vasta gamma di malattie infettive, quindi è necessario preservare l'integrità degli acidi nucleici dei campioni clinici durante il trasporto e lo stoccaggio⁽¹⁻⁵⁾. Il terreno eNAT[®] contiene un detergente e un denaturante delle proteine per prevenire la proliferazione microbica, quindi eNAT[®] non è destinato a essere utilizzato in tecniche basate su coltura.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

eNAT[®] appare chiaro e trasparente ed è pronto all'uso. È disponibile nelle seguenti configurazioni di prodotto:

CODICE	DESCRIZIONE
6U073S01	Provetta con tappo a vite 12 mm x 80 mm contenente 2 mL di terreno di raccolta e conservazione molecolare eNAT [®] più un tampone regular in fibra di nylon floccato
6U074S01	Provetta con tappo a vite 12 mm x 80 mm contenente 2 mL di terreno di raccolta e conservazione molecolare eNAT [®] più un tampone minitip in fibra di nylon floccato

REAGENTI

Il terreno di raccolta e conservazione molecolare eNAT[®] contiene:

- Guanidina tiocianato
- Tris-EDTA
- HEPES
- Detergente

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. eNAT[®] è esclusivamente destinato all'uso professionale.
2. Per uso diagnostico *in vitro*. Per uso singolo. Non risterilizzare o riutilizzare.
3. Il terreno eNAT[®] non è destinato all'uso esterno o interno nell'uomo o negli animali.
4. eNAT[®] contiene un agente lisante cellulare, quindi una procedura di pelletizzazione non è raccomandata per la concentrazione di acido nucleico.
- 5.



Pericolo
Contiene guanidina tiocianato.

H302 Nocivo se ingerito

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari

H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata

P264 Lavare accuratamente le mani dopo la manipolazione

P273 Non disperdere nell'ambiente

P280 Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/protezioni oculari/protezioni per il viso

P301+P330+P331 IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.

P303+P361+P353+P310 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia]. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P305+P351+P338+P310 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per alcuni minuti. Rimuovere le lenti a contatto se si indossano e se possibile; continuare il risciacquo. Chiamare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/medico EUH032: il contatto con acidi libera gas molto tossici

MSDS disponibile su richiesta a Copan Italia S.p.A, via F. Perotti 10, 25125 Brescia, Italia.

6. Evitare il contatto del terreno eNAT® con la cute e con le membrane mucose. In caso di contatto, sciacquare immediatamente con abbondante acqua.
7. Evitare il contatto diretto tra guanidina tiocianato e ipoclorito di sodio (candeggina) o altri reagenti altamente reattivi come acidi e basi. Queste miscele potrebbero rilasciare gas nocivi.
8. Le caratteristiche di prestazione per la stabilizzazione e l'inattivazione di virus diversi dall'influenza A non sono state studiate.
9. Controllare la versione delle istruzioni operative. La versione corretta è quella fornita con il dispositivo o disponibile in formato elettronico, e può essere identificata dall'indicatore e-IFU sull'etichetta della confezione.

STOCCAGGIO DEL DISPOSITIVO

Conservare e trasportare a 2-25°C. Non surriscaldare, incubare o congelare prima dell'uso. Lo stoccaggio scorretto comporta una perdita di efficacia. Non utilizzare dopo la data di scadenza.

DETERIORAMENTO DEL PRODOTTO

eNAT® non deve essere utilizzato se (1) la confezione è danneggiata o aperta, (2) vi sono prove di perdite o contaminazione del prodotto, (3) la data di scadenza è passata, o (4) vi sono altri segni di deterioramento.

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

I materiali e i reagenti appropriati per il test molecolare non sono forniti. Fare riferimento al foglietto illustrativo della confezione del produttore del dosaggio molecolare per i materiali, i protocolli e le tecniche di saggatura consigliati.

ISTRUZIONI PER L'USO

Raccolta, trasporto e stoccaggio dei campioni

I risultati analitici dipendono dalle corrette condizioni di raccolta, trasporto e stoccaggio dei campioni nonché dalla rispettiva elaborazione in laboratorio. I campioni devono essere raccolti o osservati da personale medico qualificato. Seguire le precauzioni di rischio biologico e la tecnica asettica durante la raccolta dei campioni. Per linee guida specifiche sulle procedure di raccolta dei campioni, consultare i manuali di raccolta standard pubblicati (6,7).

Non utilizzare il terreno eNAT® per inumidire o bagnare il dispositivo di campionamento prima della raccolta del campione o per sciacquare o irrigare il sito di campionamento.

1. A seguito della raccolta del campione, svitare e rimuovere il tappo dalla provetta eNAT® facendo attenzione a non causare la fuoriuscita del terreno.
2. Usare il tampone per prelevare il campione dal paziente. Per evitare il rischio di contaminazione, accertarsi che la punta del tampone entri in contatto solo con il sito di campionamento.
3. Inserire il tampone nella provetta fino a quando il punto di rottura (se presente) raggiunge il livello dell'apertura della provetta (Fig. 1).
4. Piegarne l'asta del tampone con un angolo di 180 gradi per romperla nel punto di rottura, facendo attenzione a tenere la provetta lontano dal viso. Se necessario, ruotare delicatamente l'asta del tampone per completare la rottura e scartare la parte superiore dell'asta del tampone (Fig. 2A e 2b). Se il tampone utilizzato non presenta un punto di rottura, tagliare la parte dell'asta in eccesso.
5. Riposizionare il tappo sulla provetta e chiudere bene (Fig. 3).
6. Scrivere i dettagli del paziente sull'etichetta della provetta o applicare l'etichetta di identificazione del paziente (Fig. 4).
7. Inviare il campione al laboratorio di prova (8,9). Trasportare a 2-25°C o secondo i propri protocolli di laboratorio interni.

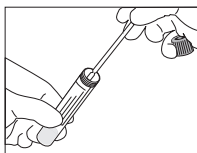


Fig. 1

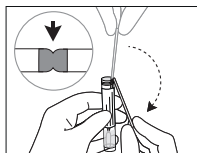


Fig. 2a

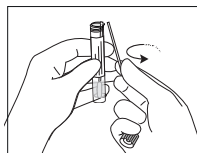


Fig. 2b

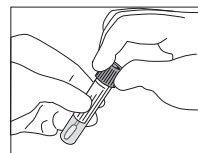


Fig. 3

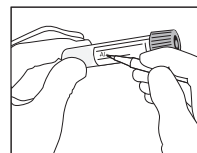


Fig. 4

Uso in laboratorio

Elaborazione di campioni eNAT® per test molecolari in laboratorio.

I campioni per il rilevamento dell'acido nucleico devono essere prontamente elaborati quando vengono ricevuti in laboratorio. I campioni conservati in terreno eNAT® potrebbero dover essere estratti e purificati prima dell'amplificazione.

1. Indossare guanti e altre protezioni adeguate alle precauzioni standard quando si maneggiano campioni clinici (10).
2. Quando si lavora con saggi NAAT, occorre adottare le opportune precauzioni al fine di prevenire la contaminazione di trascinamento. Si raccomanda la separazione spaziale delle aree di lavoro e del flusso di lavoro unidirezionale per evitare il trascinamento di ampliconi.

3. Provetta campione eNAT® vortex per 10s. I campioni viscosi possono richiedere un'ulteriore agitazione in vortex.
4. Se dopo l'agitazione in vortex compare della schiuma, attendere qualche secondo prima di aprire la provetta. Eseguire il test molecolare in conformità con il foglietto illustrativo del produttore.

SMALTIMENTO

Smaltire i rifiuti secondo le procedure di laboratorio e la legislazione locale. Se necessario, prendere le opportune precauzioni per il materiale infetto.

LIMITAZIONI:

1. Le caratteristiche prestazionali di eNAT® sono state dimostrate esclusivamente per RNA dell'influenza.
2. L'utente è responsabile della validazione di eNAT® con tutti i saggi diagnostici.
3. Le caratteristiche prestazionali di eNAT® sono state dimostrate esclusivamente per RNA dell'influenza da tamponi.
4. L'utente è responsabile di stabilire le caratteristiche di prestazione del sistema appropriate per ogni tipo di campione.
5. Il sistema eNAT® è un sistema di raccolta, conservazione, trasporto e stoccaggio di RNA dell'influenza. L'estrazione e la purificazione degli acidi nucleici sono state convalidate con il saggio Xpert Xpress Flu/RSV di Cepheid. L'utente è responsabile della validazione dei kit di estrazione e purificazione aggiuntivi.

CONTROLLO QUALITÀ

Il terreno eNAT® è verificato per inattivare l'influenza A e per preservare l'RNA dell'influenza A quando conservato a 2-25°C.

PRESTAZIONI

È stato condotto uno studio di inattivazione per verificare che eNAT® inattivi il virus dell'influenza A. Alte concentrazioni di influenza A (ceppo H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) in matrice nasale simulata sono state inoculate in eNAT® utilizzando i FLOQSwabs® di Copan. In particolare, il tampone è stato immerso nella matrice infetta e utilizzato per trasferire il campione in eNAT®. La vitalità del virus è stata misurata dopo 10 secondi in terreno eNAT® mediante inoculazione di aliquote di terreno su linee cellulari MDCK (Madin-Darby Canine Kidney), incubazione per quattro giorni e misurazione dell'effetto citopatico (CPE) potenzialmente causato dal virus. I risultati dello studio di inattivazione (Tabella 1) hanno confermato > 4,0 log di riduzione del titolo di influenza A in 10 secondi.

Tabella 1: Sintesi dei risultati dello studio sull'inattivazione dell'influenza A

Campione	Carico virale dopo 10 secondi di incubazione	Riduzione di log
CTRL+ (solo influenza A)	3,16*10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	n/d
Influenza A in eNAT®	≤ 10 ³ TCID ₅₀ /ml	4,5

È stato condotto uno studio di sensibilità analitica per determinare il limite di rilevazione (LoD) del virus dell'influenza A (ceppo H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) ottenuto mediante eNAT® in combinazione con il saggio Xpert Xpress Flu/RSV di Cepheid. Il terreno eNAT® ha raggiunto il LoD, entro l'intervallo di TCID₅₀/ml dichiarato dal saggio Xpress Flu/RSV⁽¹¹⁾ (0,75 - 0,006 TCID₅₀/ml nella matrice) per la rilevazione dell'influenza A H3N2 (Tabella 2) (risultati del canale Influenza A 1 mostrati).

Tabella 2: Sintesi dei risultati ottenuti alla diluizione corrispondente a 0,180 TCID₅₀/ml (in matrice) durante lo Studio di Sensibilità Analitica utilizzando il saggio Xpert Xpress Flu/RSV

	Campioni eNAT®
N° di repliche positive	24/24
Ct PCR medio ottenuta	34,4
Deviazione standard	0,93

Uno studio di stabilità è stato progettato per dimostrare la conservazione e la stabilità dell'RNA dell'influenza A (ceppo H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) in terreno eNAT®. La stabilità dell'RNA dell'influenza A in eNAT® è stata testata con il saggio Xpert Xpress Flu/RSV di Cepheid. I risultati (Tabella 3) (risultati del canale Influenza A 1 mostrati) hanno confermato la stabilità dell'RNA in eNAT® per 4 settimane sia a 2-8°C che a 25°C di stoccaggio.

Tabella 3: Dati sull'influenza A in eNAT® al tempo zero e dopo 4 settimane a 2-8°C e 25°C

Campioni eNAT®		Risultati
Tempo zero	N° di repliche positive	24/24
	Media dei Ct PCR	30,8
	STD.	0,40

4 settimane a 2-8°C	N° di repliche positive	24/24
	Media dei Ct PCR	30,6
	STD.	0,20
	ΔCt 4sett-T0	-0,2
4 settimane a 25°C	N° di repliche positive	24/24
	Media dei Ct PCR	30,7
	STD.	0,28
	ΔCt 4sett-T0	-0,1

CONCLUSIONE

Il terreno eNAT[®] ha dimostrato di disattivare il virus dell'influenza A in 10 secondi.

Il terreno eNAT[®] preserva l'RNA del virus dell'influenza A per un massimo di 4 settimane se conservato a 2-25°C.

Le prestazioni del terreno eNAT[®] per la stabilizzazione dell'influenza A sono state determinate con il saggio Xpert Xpress Flu/RSV di Cepheid. Possono essere applicabili anche altri metodi di estrazione e di amplificazione, previa validazione.

I test di prestazione con eNAT[®] sono stati condotti utilizzando ceppi di laboratorio in una matrice nasale simulata e inserita su un tamponne. I test delle prestazioni non sono stati condotti utilizzando campioni umani.

ESPAÑOL

Copan eNAT[®] Medio de recogida y preservación molecular

Instrucciones de uso

USO PREVISTO

Copan eNAT[®] (medio de recogida y preservación molecular) está destinado a la estabilización, transporte e inactivación de un espécimen clínico sin procesar de las vías respiratorias superiores que se sospecha que contiene ARN del virus de la gripe A. eNAT[®] (medio de recogida y preservación molecular)- está destinado a ser utilizado con ensayos moleculares compatibles.

RESUMEN Y PRINCIPIOS

El propósito principal de las técnicas de amplificación de los ácidos nucleicos es la detección de una amplia gama de enfermedades infecciosas, por lo que debe preservarse la integridad de los ácidos nucleicos de las muestras clínicas durante el transporte y el almacenamiento ⁽¹⁻⁵⁾. El medio eNAT[®] contiene un detergente y un desnaturalizante de proteínas para prevenir la proliferación microbiana, por lo que no se prevé el uso de eNAT[®] en técnicas basadas en cultivos.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

eNAT[®] tiene un aspecto claro y transparente y está listo para ser utilizado. Está disponible en las siguientes configuraciones de productos:

CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
6U073S01	Tubo de tapón de rosca de 12 mm x 80 mm que contiene 2 mL de eNAT [®] medio de recogida y preservación molecular más un hisopo regular de fibra de nailon flocado
6U074S01	Tubo de tapón de rosca de 12 mm x 80 mm que contiene 2 mL de eNAT [®] medio de recogida y preservación molecular , más un mini-tapón de fibra de nailon flocado

REACTIVOS

eNAT[®] recogida molecular y medio de preservación contiene:

- Tiocianato de guanidina
- Tris-EDTA
- HEPES
- Detergente

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. eNAT[®] es solo para uso profesional.
2. Para uso de diagnóstico *in vitro*. Para un solo uso. No volver a esterilizar o reutilizar.
3. El medio eNAT[®] no es para uso externo o interno en humanos o animales.
4. eNAT[®] contiene un agente lisante celular, por lo que no se recomienda un proceso de peletización para la concentración de ácido nucleico.

5.



Peligro
 Contiene tiocianato de guanidina.

H302 Nocivo en caso de ingestión

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves

H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos

P264 Lavarse las manos cuidadosamente después de su manipulación

P273 Evitar la liberación en el medioambiente

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección

P301+P330+P331 EN CASO DE INGESTA: enjuagarse la boca. NO provocar el vómito

P303+P361+P353+P310 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o con el cabello): quitarse inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel [o ducharse]. Ponerse en contacto inmediatamente con un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA/un médico

P305+P351+P338+P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico

EUH032: el contacto con los ácidos libera un gas muy tóxico

MSDS disponible a petición de Copan Italia S.p.A., Via Perotti 10, 25125 Brescia, Italia.

6. Evitar el contacto del medio eNAT® con la piel y las mucosas. Si se produce el contacto, enjuagar inmediatamente con abundante agua.
7. Evite el contacto directo entre el tiocianato de guanidina y el hipoclorito de sodio (lejía) u otros agentes altamente reactivos como los ácidos y las bases. Estas mezclas podrían liberar gases nocivos.
8. No se han estudiado las características de rendimiento para la estabilización e inactivación de los virus distintos del de la gripe A.
9. Compruebe la versión del manual de instrucciones. La versión correcta es la que se suministra con el dispositivo o está disponible en formato electrónico, y se puede identificar por el indicador e-IFU en la etiqueta del embalaje.

ALMACENAMIENTO DE DISPOSITIVOS

Almacenar y transportar a 2-25°C. No sobrecalentar, incubar o congelar antes de su uso. El almacenamiento inadecuado dará lugar a una pérdida de eficacia. No utilizar después de la fecha de caducidad.

DETERIORO DEL PRODUCTO

eNAT® no debe utilizarse si: 1) el envase está dañado o abierto, 2) hay indicios de fuga o contaminación del producto, 3) ha pasado la fecha de caducidad o 4) hay otros signos de deterioro.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministra los materiales y reactivos apropiados para las pruebas moleculares. Consulte el prospecto del fabricante del ensayo molecular para conocer los materiales, protocolos y técnicas de ensayo recomendados.

INSTRUCCIONES DE USO

Recogida, transporte y almacenamiento de especímenes

Los resultados analíticos dependen de que la recogida, el transporte y las condiciones de almacenamiento de las muestras sean adecuados, y de que se procesen en el laboratorio. Los especímenes deben ser recogidos u observados por personal médico cualificado. Siga las precauciones de riesgo biológico y la técnica aséptica al recoger los especímenes. Para obtener orientación específica sobre los procedimientos de recogida de muestras, consulte los manuales de recogida estándar publicados.^(6,7)

No utilice el medio eNAT® para humedecer o prehumedecer el dispositivo de muestreo antes de recoger la muestra o para enjuagar o irrigar el lugar de muestreo.

1. Después de la recogida del espécimen, desenrosque y retire la tapa del tubo eNAT® teniendo cuidado de no derramar el medio.
2. Utilizar el hisopo para recoger la muestra de la paciente. Para evitar el riesgo de contaminación, asegurarse de que la punta del hisopo solo entra en contacto con el lugar de recogida de la muestra.
3. Inserte el hisopo para la recogida, introdúzcalo en el tubo hasta que el punto de rotura (si lo hay) alcance el nivel de la abertura del tubo (Fig. 1).
4. Doble el eje del hisopo en un ángulo de 180 grados para romperlo en el punto de rotura, manteniendo el tubo alejado de la cara. Si es necesario, gire suavemente el eje de l hisopo para completar la rotura y deseche la parte superior del eje del hisopo (Fig. 2A y 2b). Si el hisopo utilizado no tiene un punto de rotura, corte la parte sobrante del eje.
5. Vuelva a colocar la tapa en el tubo y ciérrelo bien (Fig. 3).
6. Escriba la información de la paciente en la etiqueta del tubo o coloque la etiqueta de identificación de la paciente (Fig. 4).
7. Envíe la muestra al laboratorio de pruebas ^(8,9). Transporte a 2-25°C o según los protocolos internos de su laboratorio.

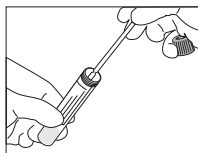


Fig. 1

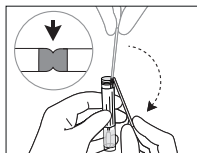


Fig. 2a

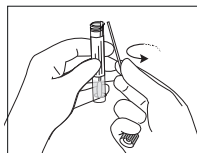


Fig. 2b

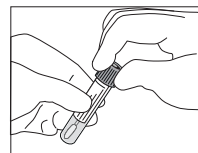


Fig. 3

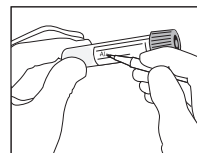


Fig. 4

Uso en el laboratorio

Procesamiento de especímenes eNAT® para pruebas moleculares en el laboratorio.

Los especímenes para la detección de ácido nucleico deben ser procesados rápidamente cuando se reciben en el laboratorio. Los especímenes conservados en el medio eNAT® pueden necesitar ser extraídos y purificados antes de su amplificación.

1. Use guantes y otra protección acorde con las precauciones estándar al manipular muestras clínicas ⁽¹⁰⁾.
2. Cuando se trabaja con ensayos NAAT, se debe tener cuidado para evitar la contaminación por transferencia. Se recomienda la separación espacial de las áreas de trabajo y el flujo de trabajo unidireccional para evitar la transferencia de amplicones.
3. Tubo de muestra eNAT® de vértice para 10 s. Las muestras viscosas pueden requerir un vértice adicional.
4. Si aparece espuma después del vértice, espere unos segundos antes de abrir el tubo. Realice el ensayo molecular de acuerdo con el prospecto del fabricante.

ELIMINACIÓN

Deshágase de los desechos de acuerdo con el procedimiento de laboratorio y la legislación local. Tomar las precauciones adecuadas para el material infectado si es necesario.

LIMITACIONES:

1. Las características de rendimiento de eNAT® se han demostrado sólo para el ARN de la gripe.
2. El usuario es responsable de validar eNAT® con todos los ensayos de diagnóstico.
3. Las características de rendimiento de eNAT® solo se han demostrado para el ARN de la gripe a partir de hisopos.
4. El usuario es responsable de establecer las características de rendimiento del sistema adecuadas para todos los tipos de especímenes.
5. El sistema eNAT® es un sistema de recogida, preservación, transporte y almacenamiento de ARN de la gripe. La extracción y purificación de los ácidos nucleicos han sido validados en el ensayo Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV. El usuario es responsable de validar los kits de extracción y purificación adicionales.

CONTROL DE CALIDAD

Se ha comprobado que el medio eNAT® inactiva la gripe A y preserva el ARN de la gripe A cuando se almacena a 2-25 °C.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se llevó a cabo un estudio de inactivación para verificar que eNAT® inactiva el virus de la gripe A. Altas concentraciones de Gripe A (cepa H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) en una matriz nasal simulada se inocularon en eNAT® usando los FLOQSwabs® de Copan. En particular, el hisopo se sumergió en la matriz infectada y se utilizó para transferir la muestra a eNAT®. La viabilidad del virus se midió después de 10 segundos en el medio eNAT®, inoculando alícuotas del medio en líneas celulares MDCK (Riñón Canino de Madin-Darby), incubando durante cuatro días y midiendo el efecto citopático (CPE) posiblemente causado por el virus. Los resultados del estudio de inactivación (Tabla 1) confirmaron > 4.0 log de reducción en el título de la Gripe A en 10 segundos.

Tabla 1: Resumen de los resultados del estudio sobre la inactivación de la gripe A

Muestra	Carga viral después de 10 s de incubación	Reducción log.
CTRL+ (solo gripe A)	3.16*10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	n/a
Gripe A en eNAT®	≤ 10 ³ TCID ₅₀ /ml	4,5

Se realizó un estudio de sensibilidad analítica para determinar el límite de detección (LoD) de la gripe A (cepa H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) obtenido por eNAT® en combinación con el ensayo Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV, el medio eNAT® ha alcanzado el LoD, dentro del rango de TCID₅₀ml declarado por el ensayo Xpress Flu/RSV ⁽¹¹⁾ (0,75 - 0,006 TCID₅₀/ml en la matriz) para la detección de Flu A H3N2 (Tabla 2) (se muestran los resultados del canal de Flu A 1).

Tabla 2: Resumen de los resultados obtenidos en la dilución correspondiente a 0,180 TCID₅₀/ml (en matriz) durante el Estudio de Sensibilidad Analítica utilizando Xpert Ensayo Xpress Flu/RSV

	eNAT [®] muestras
N° de réplicas positivas	24/24
Promedio de PCR Ct obtenido	34,4
Desviación estándar	0,93

Se diseñó un estudio de estabilidad para demostrar que el ARN de la gripe A (cepa H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) se conserva y es estable en el medio eNAT[®]. La estabilidad del ARN de la gripe A en eNAT[®] fue probada con el ensayo Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV. Los resultados (Tabla 3) (se muestran los resultados del canal 1 de la gripe A) confirmaron la estabilidad del ARN en eNAT[®] durante 4 semanas tanto a 2-8 °C como a 25 °C de almacenamiento.

Tabla 3: Datos de la gripe A en eNAT[®] en el momento cero y después de 4 semanas a 2-8 °C y 25 °C

Muestras de eNAT [®]		Resultados
Tiempo cero	N° de réplicas positivas	24/24
	Promedio de PCR Cts	30,8
	STD.	0,40
4 semanas a 2-8 °C	N° de réplicas positivas	24/24
	Promedio de PCR Cts	30,6
	STD.	0,20
	Δ Ct 4w-T0	-0,2
4 semanas a 25 °C	N° de réplicas positivas	24/24
	Promedio de PCR Cts	30,7
	STD.	0,28
	Δ Ct 4w-T0	-0,1

CONCLUSIÓN

Se ha demostrado que el medio eNAT[®] inactiva el virus de la gripe A en 10 segundos.

El medio eNAT[®] preserva el ARN del virus de la gripe A hasta 4 semanas cuando se almacena a 2-25 °C.

Las características de rendimiento medio de eNAT[®] para la estabilización de la gripe A se han determinado con el ensayo Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV. También pueden aplicarse otros métodos de extracción y amplificación con validación previa.

Las pruebas de rendimiento con eNAT[®] se realizaron utilizando cepas de laboratorio en una matriz nasal simulada que se colocó en un hisopo. Las pruebas de rendimiento no se realizaron con especímenes humanos.

Copan eNAT® Medium zur Entnahme und Konservierung klinischer Proben für die Molekulardiagnostik

Gebrauchsanweisung

VERWENDUNGSZWECK

Copan eNAT® - Ein Medium zur Probenentnahme und -konservierung für die Molekulardiagnostik - ist für die Stabilisierung, den Transport und die Inaktivierung einer noch nicht bearbeiteten klinischen Probe aus den oberen Atemwege bestimmt, bei der ein Verdacht auf DNA des Influenza-A-Virus besteht. eNAT® - das Probenahme- und Konservierungsmedium - ist für die Verwendung mit kompatiblen molekularen Nachweisverfahren vorgesehen.

ÜBERSICHT UND GRUNDSÄTZE

Der Hauptzweck von Nukleinsäureamplifikationstechniken ist das Screening auf ein breites Spektrum von Infektionskrankheiten, so dass die Nukleinsäureintegrität der klinischen Proben während des Transports und der Lagerung erhalten bleiben soll.⁽¹⁻⁵⁾ eNAT®-Medium enthält ein Detergens und ein Protein-Denaturierungsmittel, um die mikrobielle Proliferation zu verhindern, daher ist eNAT® nicht für kulturbasierte Techniken vorgesehen.

PRODUKTBESCHREIBUNG

eNAT® ist eine klare, transparente Flüssigkeit und ist einsatzbereit. Das Medium ist in den folgenden Produktgrößen erhältlich:

CODE	BESCHREIBUNG
6U073S01	Röhrchen mit Schraubdeckel, 12mm x 80mm, mit regulärem beflockten Nylonfaser-Tupfer, 2 ml eNAT® - Medium zur Probenentnahme und -konservierung für molekulardiagnostische Verfahren
6U074S01	Röhrchen mit Schraubdeckel, 12mm x 80mm, beflocktes Nylonfaser-Tupferstäbchen mit Minitip, 2 ml eNAT® - Medium zur Probenentnahme und -konservierung für molekulardiagnostische Verfahren

REAGENZIEN

Das eNAT® Medium zur Probenentnahme und -konservierung enthält:

- Guanidiniumthiocyanat
- Tris-EDTA
- HEPES
- Detergens

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. eNAT® ist nur für den Gebrauch durch medizinisches Fachpersonal bestimmt..
2. Verwendung zur *in-vitro-Diagnostik* Einmalige Verwendung. Nicht sterilisieren oder wiederverwenden.
3. eNAT® -Medium ist nicht für die externe oder interne Anwendung bei Menschen oder Tieren bestimmt.
4. eNAT® enthält ein Zell-Lysemittel, so dass ein Pelletierungsverfahren für die Nukleinsäurekonzentration nicht empfohlen wird.
- 5.



Gefahr

Enthält Guanidiniumthiocyanat

H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken

H314 Verursacht schwere Hautverbrennungen und schwere Augenschäden

H412 Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung

P264 Nach der Handhabung Hände gründlich waschen

P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden

P280 Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen

P301+P330+P331: BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen

P303+P361+P353+P310 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Sofort alle kontaminierten Kleidungsstücke ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen [oder duschen]. Sofort eine GIFTZENTRALE/einen Arzt zu Rate ziehen

P305+P351+P338+P310 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang vorsichtig mit Wasser spülen. Kontaktlinsen entfernen, falls vorhanden und einfach zu handhaben - weiter spülen. Sofort ein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/ARZT anrufen

EUH032 Entwickelt bei Kontakt mit Säure hochgiftige Gase

MSDS erhältlich auf Anfrage bei Copan Italia S.p.A., Via F. Perotti 10, 25125 Brescia, Italien.

- Vermeiden Sie den Kontakt von eNAT® Mediums mit der Haut und Schleimhäuten. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser spülen.
- Vermeiden Sie den direkten Kontakt zwischen Guanidiniumthiocyanat und Natriumhypochlorit (Bleichmittel) oder anderen hochreaktiven Reagenzien wie Säuren und Basen. Diese Gemische könnten schädliches Gas freisetzen.
- Leistungsmerkmale für die Stabilisierung und Inaktivierung anderer Viren als Influenza A sind nicht untersucht worden.
- Überprüfen Sie Ihre Version der Bedienungsanleitung. Die korrekte Version ist diejenige, die mit dem Produkte geliefert wird oder in elektronischem Format verfügbar ist, und kann durch den e-IFU-Indikator auf dem Verpackungsetikett identifiziert werden.

PRODUKTLAGERUNG

Lagerung und Transport bei 2-25°C. Vor der Verwendung vor Hitze schützen, nicht inkubieren oder einfrieren. Unsachgemäße Lagerung führt zu einem Wirkungsverlust. Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

PRODUKTBESCHÄDIGUNG

eNAT® darf nicht verwendet werden, wenn (1) die Verpackung beschädigt oder offen ist, (2) es Anzeichen für ein Auslaufen oder eine Verunreinigung des Produkts gibt, (3) das Verfallsdatum abgelaufen ist oder (4) andere Anzeichen für eine Nichtverwendbarkeit vorliegen.

LIEFERUMFANG

Geeignete Materialien und Reagenzien für molekulare Tests werden nicht mitgeliefert. Die empfohlenen Materialien, Protokolle und Testverfahren sind der Packungsbeilage des Herstellers der molekularen Abstrichverfahren zu entnehmen

GEBRAUCHSANWEISUNG

Probenentnahme, -transport und -lagerung

Analytische Ergebnisse hängen von der ordnungsgemäßen Probenentnahme, den Transport- und Lagerbedingungen und der Verarbeitung im Labor ab. Die Proben sollten von qualifiziertem medizinischen Personal entnommen oder beobachtet werden. Beachten Sie bei der Probenentnahme die Vorsichtsmaßnahmen für Biosicherheit und Keimfreiheit. Spezifische Hinweise zu den Probenentnahme-Verfahren finden Sie in den veröffentlichten Standardhandbüchern über die Entnahme von Proben und Abstrichen^(6,7).

Das eNAT®-Medium vor der Probenahme NICHT zum Vorbefeuchten oder Vornässen des Probenahmegeräts oder zum Spülen oder Befeuchten der Probenahmestelle verwenden.

- Nach Entnahme der Probe schrauben Sie die Kappe vom eNAT® Röhrchen ab und entfernen sie, wobei darauf zu achten ist, dass das Medium nicht verschüttet wird.
- Mit dem Abstrichtupfer den Abstrich vom Patient entnehmen. Zur Kontaminationsvermeidung ist sicherzustellen, dass die Tupferspitze nur mit der Abstrichentnahmestelle in Kontakt kommt.
- Führen Sie den Tupfer in das Röhrchen ein, bis die Bruchstelle (falls vorhanden) die Höhe der Öffnung des Röhrchens erreicht (Abb. 1).
- Biegen Sie den Schaft des Tupfers in einem Winkel von 180 Grad, brechen Sie ihn an der Sollbruchstelle ab wobei Sie das Röhrchen vom Gesicht fernhalten. Falls erforderlich, drehen Sie den Tupferschaft vorsichtig, um den Bruch abzuschließen, und entsorgen den oberen Teil des Tupferschafts (Abb. 2a e 2b). Wenn der verwendete Tupfer keine Sollbruchstelle aufweist, schneiden Sie den überschüssigen Teil des Schaftes ab.
- Setzen Sie die Kappe wieder auf das Röhrchen und verschließen sie fest (Abb. 3).
- Schreiben Sie Patienteninformationen auf das Etikett des Röhrchens oder bringen Sie ein Etikett zur Patientenidentifikation an (Abb. 4).
- Schicken Sie die Probe an das Prüflabor^(8,9), Transport bei 2-25°C oder nach Ihren internen Laborprotokollen.

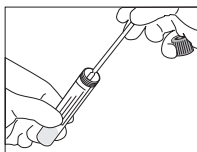


Abb. 1

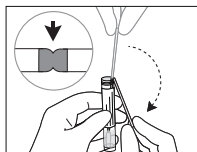


Abb. 2a

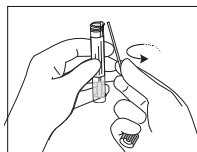


Abb. 2b

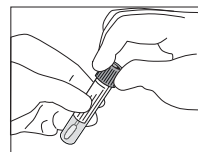


Abb. 3

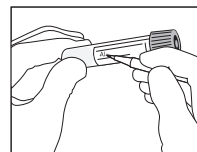


Abb. 4

Einsatz im Labor

Verarbeitung von eNAT® Proben für Molekulardiagnostik im Labor

Proben für den Nukleinsäure-Nachweis sollten sofort nach Erhalt im Labor verarbeitet werden.

Proben, die im eNAT® Medium konserviert sind, müssen möglicherweise vor der Amplifikation extrahiert und gereinigt werden.

- Tragen Sie beim Umgang mit klinischen Proben Handschuhe und andere Schutzvorrichtungen, die den Standard-Vorsichtsmaßnahmen entsprechen⁽¹⁰⁾.
- Bei der Arbeit mit NAAT-Abstrichen sollte darauf geachtet werden, eine Kontamination durch Verschleppung zu vermeiden. Es wird empfohlen, die Arbeitsbereiche räumlich zu trennen und die Arbeitsabläufe unidirektional zu gestalten, um eine Amplifikationsverschleppung zu verhindern.
- Vortex eNAT® Probenröhrchen für 10s. Viskose Proben können eine zusätzliche Verwirbelung erfordern.

4. Wenn nach der Verwirbelung Schaum entsteht, warten Sie einige Sekunden, bevor Sie das Röhrchen öffnen. Führen Sie den molekularen Abstrich in Übereinstimmung mit der Packungsbeilage des Herstellers durch.

ENTSORGUNG

Entsorgen Sie den Abfall in Übereinstimmung mit den Laborverfahren und der örtlichen Gesetzgebung. Gegebenenfalls die entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen für infiziertes Material treffen.

Einschränkungen:

1. Die Leistungsmerkmale von eNAT® wurden nur für Influenza-RNA nachgewiesen.
2. Die Validierung von eNAT® bei allen diagnostischen Abstrichen liegt in der Verantwortung des Benutzers.
3. Die Leistungsmerkmale von eNAT® wurden nur für Influenza-RNA aus Abstrichen nachgewiesen.
4. Die Festlegung geeigneter Systemleistungsmerkmale für alle Abstrichtypen liegt in der Verantwortung des Benutzers.
5. Das eNAT®-System ist ein Probenentnahme-, Konservierungs-, Transport- und Konservierungssystem für Influenza-RNA. Die Extraktion und Reinigung von Nukleinsäuren wurde auf dem Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV Assay validiert. Der Anwender ist für die Validierung zusätzlicher Extraktions- und Reinigungskits verantwortlich.

QUALITÄTSKONTROLLE

eNAT® Medium ist nachweislich in der Lage, Influenza A zu inaktivieren und Influenza A RNA zu konservieren, wenn es bei 2-25°C gelagert wird.

LEISTUNGSMERKMALE

Es wurde eine Inaktivierungsstudie durchgeführt, um zu überprüfen, ob das eNAT® das Grippevirus A inaktiviert. Hohe Konzentrationen von Flu A (H3N2-Stamm A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) in simulierter Nasenmatrix wurden in eNAT® mit FLOQSwabs® von Copan beimpft. Insbesondere wurde der Abstrich in die infizierte Matrix getaucht und zur Übertragung der Probe in eNAT® verwendet. Die Lebensfähigkeit des Virus wurde nach 10 Sekunden in eNAT®-Medium gemessen, indem MDCK-Zelllinien (Madin-Darby Canine Kidney) mit Aliquots des Mediums beimpft, vier Tage lang inkubiert und der möglicherweise durch das Virus verursachte zytopathische Effekt (CPE) gemessen wurde. Die Ergebnisse der Inaktivierungsstudie (Tabelle 1) bestätigten eine logarithmische Reduktion des Flu-A-Titers um > 4,0 innerhalb von 10 Sekunden.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisse der Studie zur Inaktivierung von Influenza A

Muster	Viruslast nach 10s Inkubation	Log. Reduzierung
CTRL+ (nur bei Flu A)	3.16*10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	k. A
Flu A in eNAT®	≤ 10 ³ TCID ₅₀ /ml	4,5

Es wurde eine analytische Sensitivitätsstudie durchgeführt, um die durch eNAT® in Kombination mit dem Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV-Test erhaltene Nachweisgrenze (LoD) für Flu A (H3N2 Stamm A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) zu bestimmen. Das eNAT®-Medium hat die LoD innerhalb des durch den Xpress Flu/RSV-Assay ⁽¹⁾ angegebenen Bereichs von TCID₅₀/ml (0,75 - 0,006 TCID₅₀/ml in der Matrix) für den Nachweis von Flu A H3N2 (Tabelle 2) erreicht (Ergebnisse des Flu A 1-Kanals gezeigt).

Tabelle 2: Zusammenfassung der Ergebnisse, die bei der Verdünnung entsprechend 0,180 TCID₅₀/ml (in Matrix) während der Analytischen Sensitivitätsstudie unter Verwendung von Xpert Xpress Flu/RSV Assay erzielt wurden.

	eNAT® Beispiele
Anzahl der positiven Wiederholungen	24/24
Durchschnittlich erhaltener PCR-Ct	34,4
Standardabweichung	0,93

Eine Stabilitätsstudie wurde erstellt, um zu zeigen, dass RNA aus Flu A (H3N2-Stamm A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) im eNAT®-Medium konserviert wird und stabil ist. Die Stabilität der Flu A-RNA in eNAT® wurde mit dem Cepheid Xpert Xpress Flu/RSV Assay getestet. Die Ergebnisse (Tabelle 3) (Flu A 1-Kanal-Ergebnisse gezeigt) bestätigten die RNA-Stabilität in eNAT® für 4 Wochen sowohl bei 2-8°C als auch bei 25°C Lagerung.

Tabelle 3: Flu A-Daten in eNAT® zum Zeitpunkt Null und nach 4 Wochen bei 2-8°C und 25°C

eNAT®-Beispiele		Ergebnisse
Zeit Null	Anzahl der positiven Wiederholungen	24/24
	Durchschnitt der PCR-Cts	30,8
	STD.	0,40
4 Wochen bei 2-8°C	Anzahl der positiven Wiederholungen	24/24
	Durchschnitt der PCR-Cts	30,6
	STD.	0,20
	ΔCt 4w-T0	-0,2
4 Wochen bei 25°C	Anzahl der positiven Wiederholungen	24/24
	Durchschnitt der PCR-Cts	30,7
	STD.	0,28
	ΔCt 4w-T0	-0,1

SCHLUSSFOLGERUNG

Es hat sich gezeigt, dass das eNAT®-Medium das Influenza-A-Virus innerhalb von 10 Sekunden inaktiviert. Das eNAT®-Medium konserviert die Influenza-A-Virus-RNA bis zu 4 Wochen, wenn es bei 2-25°C gelagert wird. Mit dem Cepheid Xpert Flu/RSV Assay wurden die eNAT®-Medium-Leistungsmerkmale für die Stabilisierung von Influenza A bestimmt. Andere Extraktions- und Amplifikationsmethoden können nach vorheriger Validierung ebenfalls anwendbar sein. Die Leistungstests mit eNAT® wurden mit Laborstämmen in einer simulierten Nasenmatrix durchgeführt, die auf einen Abstrich gespritzt wurde. Es wurden keine Leistungstests mit menschlichen Proben durchgeführt.

FRANÇAIS
Milieu de collecte et de conservation moléculaire Copan eNAT®
Mode d'emploi
UTILISATION PRÉVUE

Copan eNAT®, milieu de collecte et de conservation moléculaire se consacre à la stabilisation, au transport et à l'inactivation d'un échantillon clinique non traité des voies respiratoires supérieures, suspecté de contenir l'ARN du virus de la grippe A. eNAT®, milieu de collecte et de conservation moléculaire, peut être utilisé sur des tests moléculaires compatibles.

RÉSUMÉ ET PRINCIPES

L'objectif premier des techniques d'amplification des acides nucléiques est de dépister un large éventail de maladies infectieuses, de sorte qu'il est nécessaire de préserver l'intégrité des acides nucléiques des échantillons cliniques pendant le transport et le stockage⁽¹⁻⁵⁾. Le milieu eNAT® contient un détergent et un dénaturant protéique pour empêcher la prolifération microbienne, qui font que eNAT® ne peut pas être utilisé dans les techniques de culture.

DESCRIPTION DU PRODUIT

eNAT® est clair et transparent et prêt à l'emploi. Les modèles suivants sont disponibles :

CODE	DESCRIPTION
6U073S01	Tube avec bouchon à vis de 12 x 80 mm contenant 2 mL du milieu de collecte et de conservation moléculaire eNAT® plus un écouvillon ordinaire floqué en fibre de nylon
6U074S01	Tube avec bouchon à vis de 12 x 80 mm contenant 2 mL du milieu de collecte et de conservation moléculaire eNAT® plus un écouvillon floqué avec un embout Minitip en fibre de nylon

RÉACTIFS

Le milieu de collecte et de conservation moléculaire eNAT® contient :

- Thiocyanate de guanidinium
- Tris-EDTA
- HEPES
- Détergent

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. eNAT® est réservé à l'usage professionnel.
2. Réservé au diagnostic *in vitro*. À usage unique. Ne pas restériliser ou réutiliser.
3. Chez les humains ou les animaux, le milieu eNAT® ne peut pas être utilisé en usage externe ou interne.
4. Comme eNAT® contient un agent de lyse des cellules, pour la concentration de l'acide nucléique il n'est pas recommandé d'avoir recours à la procédure de granulation.
- 5.



Danger

Contient de la guanidine thiocyanate

H302 Nocif en cas d'ingestion

H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves

H412 Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme

P264 Se laver soigneusement les mains après la manipulation

P273 Éviter le rejet dans l'environnement

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P301+P330+P331: EN CAS D'INGESTION : se rincer la bouche. NE PAS provoquer de vomissements

P303+P361+P353+P310: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés.

Se rincer la peau [ou prendre une douche]. Contacter immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin

P305+P351+P338+P310: EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin

EUH032: au contact d'un acide, il dégage un gaz très toxique

FDS disponible sur demande auprès de Copan Italia S.p.A, via Perotti 10, 25125 Brescia, Italie.

6. Éviter le contact du milieu eNAT® avec la peau et les membranes muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau.
7. Éviter le contact direct entre le thiocyanate de guanidinium et l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) ou d'autres produits hautement réactifs tels que les acides et les bases. Ces mélanges pourraient libérer des gaz nocifs.
8. Les caractéristiques de performance pour la stabilisation et l'inactivation des virus autres que le virus de la grippe A n'ont pas été étudiées.
9. Vérifier la version du mode d'emploi. La version correcte est celle fournie avec l'instrument ou disponible au format électronique, et peut être localisée grâce à l'indicateur e-IFU sur l'étiquette de l'emballage.

ENTREPOSAGE DES INSTRUMENTS

Entreposer et transporter à 2-25°C. Ne pas surchauffer, incuber ou congeler avant utilisation. Un stockage incorrect entraînera une perte d'efficacité. Ne pas utiliser après la date d'expiration.

DÉTÉRIORATION DES PRODUITS

eNAT® ne doit pas être utilisé si (1) l'emballage est endommagé ou ouvert, (2) il y a des preuves de fuite ou de contamination du produit, (3) la date d'expiration est dépassée ou (4) il y a d'autres signes de détérioration.

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Les matériaux et réactifs appropriés pour les tests moléculaires ne sont pas fournis. Consulter la notice du fabricant de tests moléculaires pour connaître les matériaux, les protocoles et les techniques de test recommandés.

MODE D'EMPLOI

Collecte, transport et stockage des échantillons

Les résultats d'analyse dépendent de la qualité de la collecte, du transport et des conditions d'entreposage des échantillons, ainsi que du traitement en laboratoire. Les échantillons doivent être prélevés ou étudiés par le personnel médical qualifié. Suivre les précautions contre les risques biologiques et la technique aseptique lors de la collecte des échantillons. Pour obtenir des conseils spécifiques relatifs aux procédures de prélèvement d'échantillons, consulter les manuels de prélèvement standard publiés (6,7).

Ne pas utiliser le milieu eNAT®, pour préhumecter ou préhumidifier le dispositif d'échantillonnage avant de prélever l'échantillon ou pour rincer ou irriguer le site d'échantillonnage.

1. Après avoir recueilli l'échantillon, dévisser et retirer le bouchon du tube eNAT® en faisant attention à ne pas retourner le milieu.
2. Utiliser l'écouvillon pour prélever l'échantillon du patient. Afin d'éviter tout risque de contamination, s'assurer que la pointe de l'écouvillon n'entre en contact qu'avec le site d'échantillonnage.
3. Insérer l'écouvillon est utilisé pour le prélèvement, insérer l'écouvillon dans le tube jusqu'au point de rupture (s'il existe) pour qu'il atteigne le niveau d'ouverture du tube (Fig. 1).
4. Incliner la tige de l'écouvillon à un angle de 180° afin de la rompre au niveau du point de rupture en maintenant le tube loin du visage. Si nécessaire, faites tourner délicatement la tige de l'écouvillon pour la rompre totalement (Fig. 2a et 2b). Si l'écouvillon utilisé n'a pas de point de rupture, couper la partie excédentaire de la tige.
5. Replacer le bouchon sur le tube et bien le fermer (Fig. 3).
6. Inscrire les informations concernant la patiente sur l'étiquette du tube ou apposer une étiquette d'identification avec les informations de la patiente (Fig.4).
7. Envoyer l'échantillon au laboratoire d'essai ^(8,9). Transporter à 2-25°C ou conformément aux protocoles internes de votre laboratoire.

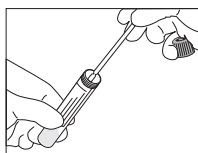


Fig. 1

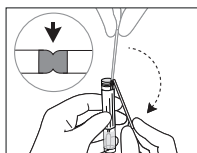


Fig. 2a

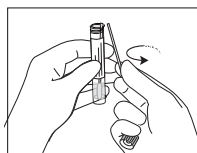


Fig. 2b

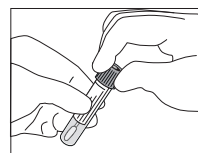


Fig. 3

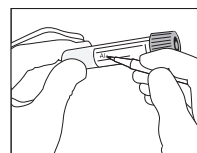


Fig. 4

Utilisation en laboratoire

Traitement des échantillons eNAT® pour les tests moléculaires en laboratoire.

Les échantillons prélevés pour la détection des acides nucléiques doivent être traités rapidement dès leur réception en laboratoire. Les échantillons conservés dans le milieu eNAT® sont éventuellement extraits et purifiés avant amplification.

1. Porter des gants et autres protections requises par les normes lors de la manipulation d'échantillons cliniques ⁽¹⁰⁾.
2. Lorsque vous travaillez sur des tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN), éviter absolument la contamination par transfert. La séparation dans l'espace des zones de travail et un séquençage unidirectionnel des tâches sont recommandés pour éviter la contamination par transfert d'amplification.
3. Tube d'échantillon eNAT® pour Vortex, agitation 10s. Les échantillons visqueux peuvent nécessiter un vortexage supplémentaire.
4. Si de la mousse apparaît après vortexage, attendre quelques secondes avant d'ouvrir le tube. Effectuer l'analyse moléculaire conformément à la notice du fabricant.

ÉLIMINATION

Éliminer les déchets conformément à la procédure de laboratoire et à la législation locale. Si nécessaire prendre les mesures de précaution qui s'imposent pour le matériel infecté.

LIMITATIONS

1. La performance de eNAT® a été prouvée seulement pour l'ARN de la grippe.
2. L'utilisateur doit valider lui-même les prestations de eNAT® et des tests de diagnostic.
3. La performance de eNAT® a été prouvée seulement pour l'ARN de la grippe sur la base des écouvillons.
4. L'utilisateur doit déterminer lui-même les caractéristiques de performance du système pour tous les types d'échantillons.
5. Le système eNAT® est un système de collecte, de préservation, de transport et de stockage de l'ARN de la grippe. L'extraction et la purification des acides nucléiques ont été validées par le test Cepheid Xpert Xpress Grippe/VRS. L'utilisateur doit valider lui-même les kits d'extraction et de purification supplémentaires.

CONTRÔLE QUALITÉ

Il a été vérifié que le milieu eNAT® inactive la grippe A et préserve l'ARN de la grippe A lorsqu'il est conservé à 2-25°C.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Une étude sur l'inactivation a été menée afin de vérifier que eNAT® inactive le virus de la grippe A. Des concentrations élevées de grippe A (souche H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC® VR-1679™) introduites dans une matrice nasale simulée ont été inoculées dans eNAT® en utilisant les FLOQSwabs® de Copan. L'écouvillon a notamment été plongé dans la matrice infectée et utilisé pour transférer l'échantillon dans eNAT®. La viabilité du virus a été mesurée après 10 secondes dans le milieu eNAT® en inoculant des aliquotes du milieu sur des lignées cellulaires MDCK (cellules rénales canines Madin-Darby), en les incubant pendant quatre jours et en mesurant l'effet cytopathique (ECP) éventuellement causé par le virus. Les résultats de l'étude sur l'inactivation (tableau 1) ont confirmé une réduction logarithmique de plus de 4,0 du titre de grippe A en 10 secondes.

Tableau 1 : Résumé des résultats de l'étude sur l'inactivation virale de la grippe A

Échantillon	Charge virale après une incubation de 10 s	Réduction logarithmique
CTRL+ (grippe A uniquement)	$3.16 \cdot 10^7$ TCID ₅₀ /ml	n/a
La grippe A dans eNAT [®]	$\leq 10^3$ TCID ₅₀ /ml	4,5

Une étude de sensibilité analytique a été menée pour déterminer la limite de détection (LD) de la grippe A (souche H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) obtenue par eNAT[®] en combinaison avec le test Cepheid Xpert Xpress Grippe/VRS. Le milieu eNAT[®] a atteint la LD, dans la plage de TCID₅₀/ml déclarée par le test Xpress Grippe/VRS⁽¹⁾ (0,75 - 0,006 TCID₅₀/ml dans la matrice) pour la détection de la grippe A H3N2 (tableau 2) (indication des résultats du canal 1 de la Grippe A).

Tableau 2 : Résumé des résultats obtenus à la dilution correspondant à 0,180 TCID₅₀/ml (dans la matrice) lors de l'étude de sensibilité analytique utilisant l'essai Xpert Xpress Grippe/VRS

	Échantillons eNAT [®]
Nombre de réplicats positifs	24/24
Ct PCR moyen obtenu	34,4
Écart-type	0,93

Une étude de stabilité a été conçue pour démontrer que l'ARN de la grippe A (souche H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) est conservée et stable dans le milieu eNAT[®]. La stabilité de l'ARN de la grippe A dans l'eNAT[®] a été testée avec le test Cepheid Xpert Xpress Grippe/VRS. Les résultats (tableau 3) (indication des résultats du canal 1 de la grippe A) ont confirmé la stabilité de l'ARN dans le milieu eNAT[®] pendant 4 semaines à une température de stockage de 2-8°C et de 25°C.

Tableau 3 : Données sur la grippe A dans l'eNAT[®] au temps zéro et après 4 semaines à 2-8°C et 25°C

Échantillons eNAT [®]		Résultats
Temps zéro	Nombre de réplicats positifs	24/24
	Moyenne des Cts PCR	30,8
	STD.	0,40
4 semaines à 2-8°C	Nombre de réplicats positifs	24/24
	Moyenne des Cts PCR	30,6
	STD.	0,20
	Δ Ct 4w-T0	-0,2
4 semaines à 25°C	Nombre de réplicats positifs	24/24
	Moyenne des Cts PCR	30,7
	STD.	0,28
	Δ Ct 4w-T0	-0,1

CONCLUSION

Il a été démontré que le milieu eNAT[®] inactive le virus de la grippe A en 10 secondes.

Le milieu eNAT[®] préserve l'ARN du virus de la grippe A pendant 4 semaines maximum lorsqu'il est conservé entre 2 et 25 °C.

Les caractéristiques de performance moyennes du milieu eNAT[®] pour la stabilisation de la grippe A ont été déterminées avec le test Cepheid Xpert Xpress Grippe/VRS. D'autres méthodes d'extraction et d'amplification peuvent être appliquées moyennant une validation préalable.

Les tests de performance de l'eNAT[®] ont été réalisés à l'aide de souches de laboratoire dans une matrice nasale simulée, sur un écouvillon floqué.

Les tests de performance n'ont pas été effectués sur des échantillons humains.

Meio de Colheita e Conservação Molecular eNAT® da Copan

Instruções de utilização

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Copan eNAT® - meio de colheita e conservação molecular - destina-se à estabilização, transporte e inativação de amostras clínicas das vias aéreas superiores não processadas com suspeita de conterem ARN do vírus influenza A. eNAT® - meio de colheita e conservação molecular - destina-se à utilização com testes moleculares compatíveis.

RESUMO E PRINCÍPIOS

O objetivo principal das técnicas de amplificação dos ácidos nucleicos é rastrear uma vasta gama de doenças infecciosas, pelo que a integridade dos ácidos nucleicos das amostras clínicas durante o transporte e armazenamento deve ser preservada⁽¹⁻⁵⁾. O meio eNAT® contém um detergente e um desnaturante proteico para prevenir a proliferação microbiana, pelo que eNAT® não se destina a ser utilizado em técnicas à base de culturas.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

eNAT® tem uma aparência límpida e transparente e está pronto a ser utilizado. Está disponível nas seguintes configurações de produto:

CÓDIGO	DESCRIÇÃO
6U073S01	Tubo com tampa roscada de 12 mm x 80 mm contendo 2 mL de meio de colheita e conservação molecular eNAT® mais uma zaragatoa padrão em fibra de nylon floculada
6U074S01	Tubo com tampa roscada de 12 mm x 80 mm contendo 2 mL de meio de colheita e conservação molecular eNAT® mais uma zaragatoa de ponta mini em fibra de nylon floculada

REAGENTES

O meio de colheita e conservação molecular eNAT® contém:

- Tioциanato de guanidina
- Tris-EDTA
- HEPES
- Detergente

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

1. eNAT® destina-se apenas a utilização profissional.
2. Para utilização em diagnóstico *in vitro* Para utilização única. Não reesterilizar nem reutilizar.
3. O meio eNAT® não se destina a uso externo ou interno em seres humanos ou animais.
4. eNAT® contém um agente lisante celular, pelo que não é recomendado um procedimento de granulação para a concentração de ácidos nucleicos.
- 5.



Perigo

Contém tioциanato de guanidina.

H302 Nocivo por ingestão

H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves

H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros

P264 Lavar as mãos cuidadosamente após manuseamento

P273 Evitar a libertação para o ambiente

P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial

P301+P330+P331 EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO induzir o vômito

P303+P361+P353+P310 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico

EUH032: em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos

A FDS está disponível mediante pedido para Copan Italia S.p.A. via F. Perotti 10, 25125 Brescia Itália.

6. Evite o contacto do meio eNAT® com a pele e as mucosas. Se ocorrer contacto, lave imediatamente com água abundante.
7. Evite o contacto direto entre o tioциanato de guanidina e o hipoclorito de sódio (lixívia) ou outros reagentes altamente reativos, como ácidos e bases. Estas misturas podem libertar gás nocivo.
8. As características de desempenho para estabilização e inativação de vírus diferentes do vírus influenza A não foram estudadas.

- Verifique a versão das instruções de utilização. A versão correta é a fornecida com o dispositivo ou disponível em formato eletrônico, e pode ser identificada pelo indicador e-IFU na etiqueta da embalagem.

ARMAZENAMENTO DO DISPOSITIVO

Armazenar e transportar a 2-25°C. Não sobreaquecer, incubar nem congelar antes da utilização. Uma conservação inadequada irá resultar em perda da eficácia. Não utilizar após o prazo de validade.

DEGRADAÇÃO DO PRODUTO

eNAT® não deve ser utilizado se (1) a embalagem estiver danificada ou aberta, (2) existirem indícios de fuga ou contaminação do produto, (3) o prazo de validade tiver sido excedido, ou (4) existirem outros sinais de degradação.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Os materiais e reagentes adequados para testes moleculares não são fornecidos. Consulte o folheto do fabricante do teste molecular para ver os materiais, protocolos e técnicas de teste recomendados.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Colheita, transporte e armazenamento de amostras

Os resultados analíticos dependem da colheita, das condições de transporte e do armazenamento adequado das amostras, assim como do processamento laboratorial. As amostras devem ser recolhidas ou observadas por pessoal médico qualificado. Siga as precauções de risco biológico e uma técnica asséptica ao recolher amostras. Para orientação específica sobre os procedimentos de colheita de amostras de esfregaços vaginais, consulte os manuais de colheita padrão publicados ^(6,7).

Não utilize o meio eNAT® para humedecer ou molhar previamente o dispositivo de recolha de amostras antes da colheita da amostra nem para enxaguar ou irrigar o local da colheita

- Após a colheita da amostra, desenrosque e retire a tampa do tubo eNAT® tendo cuidado para não derramar o meio.
- Utilizar a zaragatoa para recolher a amostra do doente. Para evitar o risco de contaminação, certificar-se de que a ponta da zaragatoa entra em contacto apenas com o local de colheita de amostra.
- Introduza a zaragatoa no tubo até o ponto de quebra (se existente) atingir o nível da abertura do tubo (Fig. 1).
- Dobre a haste da zaragatoa num ângulo de 180 graus para a partir no ponto de quebra, mantendo o tubo afastado da cara. Se necessário, rode suavemente a haste da zaragatoa para partir totalmente e elimine a parte superior da haste da zaragatoa (Fig. 2a e 2b). Se a zaragatoa utilizada não tiver um ponto de quebra, corte a parte da haste excedente.
- Coloque a tampa no tubo apertando firmemente (Fig. 3).
- Escreva as informações da doente na etiqueta do tubo ou coloque uma etiqueta de identificação da doente (Fig. 4).
- Envie a amostra para o laboratório de testes ^(6,8). Transporte a 2-25 °C ou de acordo com os protocolos internos do seu laboratório.

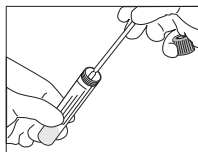


Fig. 1

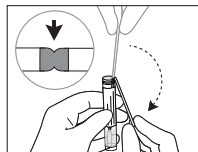


Fig. 2a

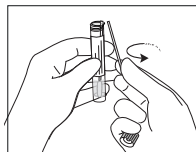


Fig. 2b

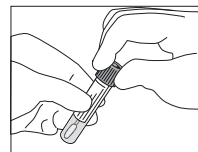


Fig. 3

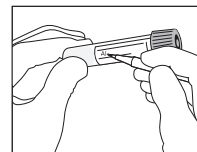


Fig. 4

Utilização no laboratório

Processamento de amostras eNAT® para testes moleculares em laboratório.

As amostras para deteção de ácidos nucleicos devem ser processadas rapidamente assim que são recebidas no laboratório.

As amostras conservadas no meio eNAT® podem precisar de ser extraídas e purificadas antes da amplificação.

- Utilize luvas e outras proteções proporcionais às precauções padrão para o manuseamento de amostras clínicas ⁽¹⁰⁾.
- Quando trabalhar com testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT), deve ter-se cuidado para evitar a contaminação por transferência. É recomendada a separação espacial entre as áreas de trabalho e o fluxo de trabalho unidirecional de modo a evitar o transporte de amplicons.
- Coloque o tubo de amostra eNAT® no vórtex e agite durante 10 segundos. As amostras viscosas podem requerer uma agitação adicional. Se aparecer espuma após a agitação, espere alguns segundos antes de abrir o tubo. Execute o teste molecular de acordo com o folheto do fabricante.

ELIMINAÇÃO

Elimine os resíduos em conformidade com os procedimentos laboratoriais e a legislação local. Tome as precauções apropriadas relativamente ao material infetado, se necessário.

LIMITAÇÕES:

1. As características de desempenho do eNAT[®] apenas foram demonstradas para o ARN do vírus Influenza.
2. utilizador é responsável pela validação do eNAT[®] em todos os testes de diagnóstico.
3. As características de desempenho do eNAT[®] apenas foram demonstradas para o ARN do vírus Influenza a partir de zaragatoas.
4. utilizador é responsável por estabelecer as características de desempenho adequadas do sistema para todos os tipos de amostras.
5. sistema eNAT[®] é um sistema de colheita, conservação, transporte e armazenamento de ARN do vírus Influenza. A extração e a purificação dos ácidos nucleicos foram validadas no teste para vírus Influenza/VRS Xpert Xpress da Cepheid. O utilizador é responsável pela validação de kits de extração e purificação adicionais.

CONTROLO DA QUALIDADE

Está confirmado que o meio eNAT[®] inativa o vírus influenza A e conserva o ARN do vírus influenza A quando armazenado a 2-25 °C.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Foi realizado um estudo de inativação para confirmar que o eNAT[®] inativa o vírus Influenza A. Altas concentrações do vírus Influenza A (estirpe H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) em matriz nasal simulada foram inoculadas no eNAT[®] utilizando as FLOQSwabs[®] da Copan. Em particular, a zaragatoa foi imersa na matriz infetada e utilizada para transferir a amostra para o eNAT[®]. A viabilidade do vírus foi medida após 10 segundos no meio eNAT[®] através da inoculação de alíquotas de meio em linhas celulares MDCK (células de rim caninas Madin-Darby), incubando durante quatro dias e medindo o efeito citopático (CPE) possivelmente causado pelo vírus. Os resultados do estudo de inativação (Tabela 1) confirmaram uma redução logarítmica > 4,0 no título do vírus Influenza A em 10 segundos.

Tabela 1: Resumo dos resultados do estudo de inativação do vírus influenza A

Amostra	Carga viral após uma incubação durante 10 seg.	Redução logarítmica
CTRL+ (apenas Influenza A)	3,16*10 ⁷ TCID ₅₀ /ml	n/a
Influenza A no eNAT [®]	≤ 10 ³ TCID ₅₀ /ml	4,5

Foi realizado um estudo analítico da sensibilidade para determinar o limite de deteção (LdD) do vírus Influenza A (estirpe H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) obtido pelo eNAT[®] em combinação com o teste para o vírus Influenza/VRS Xpert Xpress da Cepheid. O meio eNAT[®] atingiu o LdD, na gama de TCID₅₀/ml declarada pelo teste para o vírus Influenza/VRS Xpert Xpress da Cepheid ⁽¹¹⁾ (0,75 - 0,006 TCID₅₀/ml na matriz) para a deteção do vírus Influenza A H3N2 (Tabela 2) (apresenta os resultados do canal 1 do vírus Influenza A).

Tabela 2: Resumo dos resultados obtidos com a diluição correspondente a 0,180 TCID₅₀/ml (na matriz) durante o Estudo Analítico da Sensibilidade utilizando o teste para o vírus Influenza/VRS Xpert Xpress

	Amostras eNAT [®]
N.º de réplicas positivas	24/24
Média do limiar do ciclo PCR	34,4
Desvio padrão	0,93

Um estudo de estabilidade foi concebido para demonstrar que o ARN do vírus Influenza A (estirpe H3N2 A/Hong Kong/8/68 ATCC[®] VR-1679[™]) é conservado e estável no meio eNAT[®]. A estabilidade do ARNA do vírus Influenza A no eNAT[®] foi testada com o teste para vírus Influenza/VRS Xpert Xpress da Cepheid. Os resultados (Tabela 3) (apresenta os resultados do canal 1 do vírus Influenza A) confirmaram a estabilidade do ARN no eNAT[®] durante 4 semanas tanto a temperaturas de armazenamento entre 2-8°C como a 25°C.

Tabela 3: Dados do vírus Influenza A no eNAT[®] no tempo zero e após 4 semanas a 2-8 °C e 25 °C

Amostras eNAT [®]		Resultados
Tempo zero	N.º de réplicas positivas	24/24
	Média dos limiares dos ciclos PCR	30,8
	Padrão	0,40
4 semanas a 2-8 °C	N.º de réplicas positivas	24/24
	Média dos limiares dos ciclos PCR	30,6
	Padrão	0,20
	Δ Ct 4w-T0	-0,2
4 semanas a 25 °C	N.º de réplicas positivas	24/24
	Média dos limiares dos ciclos PCR	30,7
	Padrão	0,28
	Δ Ct 4w-T0	-0,1

CONCLUSÃO

O meio eNAT[®] demonstrou inativar o vírus Influenza A em 10 segundos.

O meio eNAT[®] conserva o ARNA do vírus Influenza A durante até 4 semanas quando armazenado a 2-25°C.

















As características de desempenho do meio eNAT[®] para a estabilização do vírus Influenza A foram determinadas com o teste para o vírus Influenza/VRS Xpert Xpress da Cepheid. Outros métodos de extração e amplificação podem também ser aplicáveis se validados previamente.

Os testes de desempenho com eNAT[®] foram realizados utilizando estirpes laboratoriais numa matriz nasal simulada colocada numa zaragatoa. Os testes de desempenho não foram realizados utilizando amostras humanas.

BIBLIOGRAPHY

1. Jaehyeon Lee, M.D., Hye Soo Lee, M.D., Yong Gon Cho, M.D., Sam Im Choi, M.D., and Dal Sik Kim, M.D. (2018). Evaluation of Allplex Respiratory Panel 1/2/3 Multiplex Real-Time PCR Assays for the Detection of Respiratory Viruses with influenza A Virus subtyping. *Ann Lab Med* 2018; 38:46-50 <https://doi.org/10.3343/alm.2018.38.1.46>
2. Sandeep Ramalingam, Catriona Graham, Jenny Dove, Lynn Morrice & Aziz Sheikh. (2019). A pilot, open labelled, randomised controlled trial of hypertonic saline nasal irrigation and gargling for the common cold. www.nature.com/scientificreports (2019) 9:1015 | <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37703-3>
3. F. Mhimbira, H. Hiza, E. Mbuba, J. Hella, L. Kamwela, M. Sasamalo, M. Tidla, K. Said, G. Mhalu, M. Chiryamkubi, C. Schindler, K. Reither, S. Gagneux, L. Fenner. (2019). Prevalence and clinical significance of respiratory viruses and bacteria detected in tuberculosis patients compared to household contact controls in Tanzania: a cohort study. *Clinical Microbiology and Infection* 25 (2019) 107.e1e107.e7 <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.03.019>
4. Kaiser R., Knops E., Neumann-Fraune M., Timmen-Wego M., Gärtner B., Adams O. (2018). The Respiratory Virus Network – An initiative to collect and provide data on respiratory virus diseases via internet. *J Clin Virol.* 2015 Sep; 70: S44. [10.1016/j.jcv.2015.07.106](https://doi.org/10.1016/j.jcv.2015.07.106)
5. José M. Ordóñez-Mena, Thomas R. Fanshawe, Chris C. Butler, David Mant, Denise Longhurst, Peter Muir, Barry Vipond, Paul Little, Michael Moore, Beth Stuart, Alastair D. Hay, Hannah V. Thornton, Matthew J. Thompson, Sue Smith, Ann Van den Brueg, Victoria Hardyh, LaiKin Cheah, Derrick Crook, Kyle Knox. (2019). Relationship between microbiology of throat swab and clinical course among primary care patients with acute cough: a prospective cohort study. *Family Practice*, 2019, 1–8 [doi:10.1093/fampra/cmz093](https://doi.org/10.1093/fampra/cmz093)
6. Clinical and Laboratory Standards Institute 2005. Collection, transport, preparation, and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. MM13-A CLSI, Wayne, PA.
7. J. Michael Miller, Shelley A. Miller, 2017. A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology, Third Edition. ASM, Washington DC.
8. World Health Organization 2019. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2016. Guide for Shipping Infectious Substances.
10. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories 5th Edition. Ex 6
11. Xpress Flu_RSV ENGLISH Package Insert 301-6580, Rev. E

Index of Symbols / Tabella dei Simboli / Tabla de símbolos / Symboltabelle / Table des Symboles / Tabela de símbolos

Symbol / Simbolo / Símbolo / Symbol / Symbole / Símbolos	Meaning / Significato / Signification / Bedeutung / Sens / Significado
	Manufacturer / Fabbricante / Fabricante / Hersteller / Fabricant / Fabricante
	CE marking / Marchio CE / Marca CE / CE-Kennzeichnung / Marquage CE/ Marcação CE
	"In vitro diagnostic device / Dispositivo Diagnostico in Vitro / Dispositivo de diagnóstico in vitro / In-vitro-Diagnostikum / Dispositif de diagnostic in vitro/ Dispositivo de diagnóstico in vitro"
	Identification number of notified body / Numero di identificazione dell'organismo notificato / Identificación del organismo notificado / Identifizierung der benannten Stelle / Identification de l'organisme notifié / Identificação do organismo notificado
	Sterilized using irradiation / Sterilizzato usando radiazioni ionizzanti / Esterilizado usando radiaciones ionizantes / Sterilisiert mit ionisierenden Strahlungen / Stérilisé à l'aide de radiations ionisantes / Esterilizado por radiação ionizante
	Do not reuse / Non riutilizzare / No reutilizar / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Não voltar a utilizar
	Catalogue number / Numero di catalogo / Número de catálogo / Bestellnummer / Référence du catalogue / Número do catálogo
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Límites de temperatura / Temperature Begrenzung / Limites de temperature / Limites de temperatura
	Use by / Utilizzare entro / Fecha de caducidad / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Prazo de validade
	"Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultar as instruções de utilização"
	"Batch code (Lot) / Codice del lotto (partita) / Código de lote (Lote) / Chargencode (Chagenbezeichnung) / Code de lot (Lot) / Código do lote (Lote) "
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per <n> test / Contenido suficiente para <n> pruebas / Ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Contém o suficiente para <n> testes
	"Do not use if package is damaged / Non utilizzare in caso di confezionamento danneggiato / No utilizar en caso de paquete dañado / Bei Beschädigung der Verpackung nicht verwenden / Ne pas utiliser si l'emballage est abîmé / Não utilizar se a embalagem estiver danificada"
	"This only applies to US: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Vale solo per gli Stati Uniti: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Sólo se aplica a los EE.UU.: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Gilt nur für die USA: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / S'applique uniquement aux États-Unis: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner." / Isto aplica-se apenas aos EUA: "Caution: Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a licensed practitioner.""
 eIFU indicator	Consult the operating instructions supplied with the device or available in electronic format, and which can be identified by the e-IFU indicator on the packaging label / Consultare le istruzioni per l'uso fornite con il dispositivo oppure disponibili in formato elettronico ed identificate dall'e-IFU indicator sull'etichetta imballo / Consultar las instrucciones de uso suministradas con el dispositivo o disponibles en formato electrónico e identificadas por el indicador e-IFU de la etiqueta del embalaje / Konsultieren Sie die Gebrauchsanweisung, die mit dem Gerät geliefert wird oder in elektronischem Format vorliegt und durch den e-IFU-Indikator auf dem Verpackungsetikett gekennzeichnet ist/ Voir le mode d'emploi fourni avec l'appareil ou disponible au format électronique et identifiable grâce à l'indicateur e-IFU sur l'étiquette de l'emballage / Ver as instruções de utilização fornecidas com o dispositivo ou disponíveis em formato eletrônico e identificadas pelo indicador e-IFU na etiqueta da embalagem
	Caution / Attenzione / Precaución / Vorsicht / Attention / Cuidado



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

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

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

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



Innovating Together™

Copyright © 2020 Copan Italia S.p.A.
All rights reserved