

CONTENUTO DEL KIT

100 flaconcini (15 ml) UNIFIX™

1 Foglio istruzioni in 10 lingue

MATERIALI NON FORNITI

acetato di etile, soluzione fisiologica

bastoncini applicatori e applicatori con punta in cotone

pipette di trasferimento

sistema di concentrazione (Sed-Connect™, Para- cSoendcTEMN,

tMraaticornos-SysetdeTMM)(edonnect , ara centrifuga

microscopio, vetrini portaoggetti e vetrini coprioggetti

reagenti per colorazione tricromica

formalina 5%, formalina 10% o soluzione fisiologica

RACCOLTA

1. La raccolta di campioni fecali per la ricerca dei parassiti intestinali deve sempre essere eseguita prima dell'uso di antiacidi, bario, bismuto, medicinali antidiarroici o lassativi oleosi.
2. Per la ricerca di routine dei parassiti prima della terapia, si raccomandano almeno tre campioni, raccolti a giorni alterni. Due campioni devono essere raccolti dopo evacuazioni normali e uno dopo l'assunzione di un catartico, quale solfato di magnesio o Fleet Phospho-Soda. Se il paziente accusa diarrea, non utilizzare lassativi.
3. I campioni fecali devono essere raccolti in un contenitore a imboccatura larga, pulito e asciutto; una padella sanitaria è l'ideale. Sono tuttavia accettabili una scatola da mezza pinta in cartone cerato, un cartone da latte pulito e asciutto con i due terzi superiori rimossi, un sacchetto di plastica o pellicola alimentare collocata sull'apertura della tazza del wc. Evitare la contaminazione con urina.
4. Introdurre nel flaconcino piccoli campioni delle feci utilizzando la paletta integrata nel tappo del flaconcino. Prestare particolare attenzione alle aree che appaiono ematiche o contengono molto muco. Introdurre i campioni fino a quando il livello del liquido non raggiunge la "linea di riempimento" rossa. Ciò assicurerà il corretto rapporto di tre a uno tra fissativo e campione.
5. Utilizzare la paletta per mescolare e miscelare accuratamente le feci con il fissativo. Richiudere il flaconcino, assicurandosi che il tappo sia ben stretto. Agitare con decisione il flaconcino fino a quando il contenuto non è completamente miscelato (la soluzione deve apparire omogenea).
6. Compilare i dati del paziente sul lato di ciascun flaconcino. Richiudere i flaconcini nella busta di plastica. **Avvertenza:** Ogni campione deve essere trattato come una potenziale fonte di contaminazione.

ESAME

L'uso di UNIFIX consente un'ampia varietà di procedure d'esame, tra cui esame macroscopico (solo se il kit contiene un flaconcino pulito), esame microscopico diretto, colorazione permanente e procedure di concentrazione.

Esame macroscopico

Esaminare il contenuto del flaconcino pulito (campione a fresco) e

registrare la consistenza del campione e l'eventuale presenza di elminti, proglottidi o sangue.

Esame microscopico

Strisci diretti da campione preservato in UNIFIX. Allestire lo striscio miscelando una piccola quantità di materiale fecale preservato (circa 2 mg) a una goccia di soluzione fisiologica su un vetrino. Coprire con un vetrino coprioggetti da 22 x 22 mm. Esaminare immediatamente tutto il vetrino coprioggetti utilizzando l'obiettivo a basso ingrandimento. Gli oggetti sospetti possono essere esaminati con alto ingrandimento a secco. Poiché il materiale fecale è stato conservato, non sarà visibile la mobilità degli organismi (scopo del montaggio umido diretto). Con il materiale preservato, la ricerca di uova e parassiti di routine può iniziare con la concentrazione fecale anziché con il montaggio umido diretto.

Colorazione permanente e procedura di concentrazione con MCC Para-Sed (50 ml) e Sed-Connect (15 ml)

Miscelare accuratamente il contenuto del flaconcino UNIFIX.

1. Rimuovere il tappo dal flaconcino UNIFIX e aggiungere 8-10 gocce di tensioattivo. Richiudere il flaconcino, assicurandosi che il tappo sia ben serrato.
2. Miscelare il contenuto del flaconcino agitando vigorosamente o agitando su vortex per 30 secondi.
3. Con il flaconcino per centrifuga da 50 ml o il flaconcino da 15 ml ancora applicati in modo lasco all'unità filtrante (l'attacco lasco faciliterà il rilascio della pressione dell'aria durante l'uso), inserire l'estremità aperta dell'unità filtrante nel flaconcino del campione finché la guarnizione è saldamente chiusa. Stringere il flaconcino per centrifuga da 15 ml o da 50 ml sull'unità filtrante.
4. Capovolgere la provetta e filtrare il campione attraverso la rete nella provetta per centrifuga da 15 ml o 50 ml. Se il flusso non si avvia immediatamente o il campione è denso, è possibile avviare il flusso picchiando seccamente la provetta per centrifuga su un piano di lavoro.
5. Al termine della filtrazione, picchiare la provetta per centrifuga sul piano di lavoro 2 o 3 volte per assicurarsi che tutto il fluido (Par-Sed) o 3-5 ml di materiale (Sed-Connect) sia colato nella provetta. Inclinare leggermente l'unità filtrante. Svitare l'unità concentratore e il flaconcino del campione ed eliminare seguendo le procedure di laboratorio stabilite per i campioni fecali.
6. Avvitare il tappo a vite sulla provetta per centrifuga da 50 ml o premere il tappo sulla provetta per centrifuga da 15 ml e centrifugare per 10 minuti a 500 xg (1800-2000 rpm per la maggior parte delle centrifughe da banco).
7. Decantare. Miscelare il restante sedimento preservato in UNIFIX con un bastoncino applicatore.
8. Allestire un vetrino per la colorazione permanente aggiungendo un piccolo campione del sedimento sospeso al vetrino. Il sedimento può essere utilizzato anche per preparare strisci per colorazioni speciali (coloranti acido-resistenti modificati per coccidi o tricromici modificati per microsporidi).
9. Distribuire il campione sul vetrino per formare uno striscio sottile di spessore variabile. Lasciare asciugare fino al giorno dopo a temperatura ambiente o per diverse ore (minimo 30 minuti; 60 minuti se il vetrino è più spesso) in un incubatore o riscaldatore per vetrini a 37 ° C (lo striscio apparirà opaco una volta asciutto). Non utilizzare un blocco riscaldante; la temperatura sarà dannosa per tutti gli organismi presenti.
10. Procedere con il regime di colorazione scelto. Si raccomanda la colorazione tricromica di Gomori secondo Wheatley; è possibile

utilizzare anche ematosilina ferrica.

Procedura di colorazione

1. Porre in colorante tricromico per 6-10 minuti.
2. Immergere due volte in alcol 90% con acido acetico 0.5%. Se il vetrino appare pallido, impiegare alcol 90% senza acido o colorare più a lungo.
3. Porre in due cambi di alcol 100% per 2-5 minuti.
4. Porre in due cambi di xilene o sostituto dello xilene per 5-10 minuti.

Procedura di concentrazione utilizzando MCC Para-Sed n. 695A

1. Al sedimento rimanente dal punto 8 sopra aggiungere soluzione fisiologica (è possibile utilizzare, in alternativa, formalina 5% o 10%) per portare il livello del sedimento filtrato alla linea di riempimento sulla provetta per centrifuga Para-Sed.
2. Aggiungere circa 3 ml - 5 ml di acetato di etile (o altro sostituto dell'etere) e richiudere la provetta con il tappo fornito con il kit.
3. Tenere la provetta in modo che il tappo sia diretto lontano dal viso e agitare vigorosamente per 30 secondi. Se si utilizza etere etilico (sconsigliato), durante l'agitazione può accumularsi pressione e il tappo deve essere allentato con cautela dopo l'agitazione per rilasciare la pressione, quindi richiuso.
4. Centrifugare a 500 Xg per 10 minuti.
5. Rimuovere con cautela il tappo. La soluzione risultante deve avere quattro strati:

Primo dall'alto: acetato di etile o etere etilico

Secondo: tappo di detriti

Terzo: soluzione fisiologica (o formalina)

Quarto: sedimento

6. Passare con un movimento circolare un bastoncino applicatore intorno allo strato di detriti per staccarli. Inclinare la provetta per eliminare il surnatante e lo strato di detriti. Mentre la provetta è ancora inclinata, passare con movimento circolare un applicatore con punta in cotone sui lati della provetta, assicurandosi di rimuovere l'eventuale acetato di etile o etere etilico rimanente. La mancata rimozione dell'acetato di etile in eccesso può causare la formazione di bolle di solvente nel vetrino umido. Il sedimento sul fondo della provetta conterrà i parassiti.
7. Risospendere il sedimento restante con alcune gocce di soluzione fisiologica o formalina 5% o 10%.
8. Per allestire un vetrino umido, prelevare un campione dal materiale risospeso con una pipetta capillare o una pipetta di trasferimento. Porre una o due gocce su un vetrino portaoggetti e coprire con un vetrino coprioggetti. Esaminare immediatamente.
9. Se si preferisce una soluzione iodata come mezzo di montaggio, porre su un vetrino una goccia di soluzione iodata di Lugol e una goccia del materiale riso

speso. Posizionare un vetrino coprioggetti sul vetrino portaoggetti ed esaminare immediatamente.

10. Se si devono allestire strisci per una colorazione speciale (specie di *Cryptosporidium*, *Isospora belli*, *Cyclospora cayetanensis*, o i microsporidi), è possibile utilizzare per fare gli strisci il sedimento rimanente.

Se si impiegano Sed-Connect o Micro-Sed per la concentrazione, utilizzare la procedura seguente.

Miscelare accuratamente il contenuto del flaconcino UNIFIX. Procedere seguendo le istruzioni per la processazione del campione specificate nel foglio istruzioni di Micro-Sed o Sed-Connect. NB: Se si preferisce un singolo lavaggio, i punti 6 e 7 si possono saltare.

Se non sono disponibili MCC Para-Sed, Micro-Sed o Sed-Connect, è possibile utilizzare la seguente procedura per i vetrini con colorazione permanente e la concentrazione:

1. Miscelare accuratamente il materiale nel flaconcino UNIFIX.
2. Filtrare circa 2-3 ml del contenuto fissato attraverso la garza raccogliendo in una provetta per centrifuga da 15 ml.
3. Centrifugare per 10 minuti a 500 xg.
4. Il sedimento deve avere un volume di circa 1 ml. Decantare il liquido surnatante.
5. Miscelare il sedimento e allestire un vetrino permanente come precedentemente descritto.
6. Utilizzare il sedimento rimanente per il metodo di concentrazione scelto.

PRECAUZIONI

1. L'acetato di etile e l'etere etilico sono infiammabili. Utilizzare in un'area ben ventilata. Tenere lontano da fiamme dirette. Evitare il contatto della soluzione con la pelle e gli occhi. In caso di contatto sciacquare con acqua corrente. Evitare di respirare i fumi.
2. Evitare il contatto della soluzione UNIFIX con la pelle o gli occhi. In caso di contatto, sciacquare l'area interessata con acqua. In caso di irritazione rivolgersi immediatamente a un medico.
3. La soluzione UNIFIX è velenosa. In caso di ingestione bere latte o acqua. Rivolgersi immediatamente a un medico.
4. Ogni campione deve essere trattato come una potenziale fonte di infezione. La buona pratica di laboratorio deve essere seguita in ogni momento. Si raccomanda l'uso di guanti e il lavaggio delle mani.

STABILITÀ

La data di scadenza di ogni kit è stampata sull'etichetta esterna. Le date di scadenza di ogni flaconcino sono stampate sull'etichetta del singolo flaconcino. I kit devono essere conservati a temperatura ambiente. Se i flaconcini UNIFIX vengono esposti a temperature di congelamento per un periodo di tempo prolungato, si congelano. Se i flaconcini vengono riportati a temperatura ambiente, non ci saranno variazioni delle prestazioni.

BIBLIOGRAFIA

1. Brooke, M.M., 1974. "Intestinal and Urogenital Protozoa", Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, D.C., Second Edition, 582-601.

2. Garcia, L.S. 2009. Practical Guide to Diagnostic Parasitology, 2nd ed., ASM Press, Washington D.C.

3. Garcia, L.S. 2007. Diagnostic Medical Parasitology, 5th ed., ASM Press, Washington, D.C.

4. Garcia, L.S. (Coordinating Editor), 2003. Selection and Use of Laboratory Procedures for Diagnosis of Parasitic Infections of the Gastrointestinal Tract, Cumitech 30A, ASM Press, Washington, D. C.

5. Melvin, D.M., e M.M. Brooke. 1982 Laboratory Procedures for the Diagnosis of Intestinal Parasites, 3rd ed. U.S. Department of health, Education and Welfare Publication no. (CDC) 82-8282. Government Printing Office, Washington, D.C

6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997, Procedures for the Recovery and Identification of Parasites from the Intestinal Tract, 2nd ed., Approved Guideline, M28-A National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA..

7. Scholten, Th., 1972. An Improved Technique for the Recovery of Intestinal Protozoa. J. Parasitol. 58:603-634

8. Yang, J., and Th. Scholten, 1977. A Fixative for Intestinal Parasites Permitting the Use of Concentration and Permanent Staining Procedures. Am. J. Clin. Pathol., 67:300-304.

ALTRI PRODOTTI MEDICAL CHEMICAL

	<u>N. CATALOGO</u>
Flaconcini Z-PVA	2802-05
Flaconcini LV-PVA	2803-05
Flaconcini SAF	574-05
Flaconcini C&S Medium	2805-05
Flaconcini puliti	310
Para-Sed™ (sistema di concentrazione 50 ml)	695A
Micro-Sed™ (sistema di concentrazione 15 ml)	694A
Sed-Connect™ (sistema chiuso 15 ml, 50 ml)	693A
(con acetato di etile)	693A-E
Tricromica di Gomori sec. Wheatley	602A
Blu tricromico modificato per microsporidi	601A
Ematossilina ferrica 1	6185A
Ematossilina ferrica 2	6188A
Soluzione iodata D'Antoni	628A
Colorante di Giemsa	591A
Tampone per Giemsa	592A

Forniamo inoltre:

Coloranti di Gram
Coloranti AFB
Coloranti fluorescenza AFB
Vetrini per controllo qualità

Organismi QC

Data di revisione: 23 aprile 2009

MCC



Medical Chemical Corporation 19430 Van Ness Ave.
Torrance, CA 90501
Telefono (310)787-6800
Telefono (800) 424-9394
Fax (310) 787-4464

[EcREP CEpartner4U, 3951 DB;
13. NL. tel: +31 (0)6.516.536.26]

UNIFIX™

Sistema di raccolta delle feci N. catalogo 2804-05

USO PREVISTO

Il kit di raccolta delle feci UNIFIX è un sistema a flaconcino singolo che fornisce al personale non formato un metodo standardizzato atto a raccogliere e conservare correttamente campioni fecali per il rilevamento di larve e uova di elminti, trofozoiti e cisti di protozoi, oocisti di coccidi e spore di microsporidi. Da un campione conservato in UNIFIX è possibile effettuare la colorazione permanente e la concentrazione. Viene fornito un foglio di istruzioni in dieci lingue allo scopo di assistere i pazienti o gli operatori sanitari nell'uso corretto dei kit a casa o in ospedale.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE

La diagnosi di infezione parassitaria intestinale è confermata dal rilevamento della presenza di larve e uova di elminti, trofozoiti e cisti di protozoi, oocisti di coccidi e spore di microsporidi. La capacità di rilevare e identificare i parassiti intestinali in campioni fecali a fresco dipende dall'immediatezza della raccolta, del trasporto e dell'esame di laboratorio, che è difficoltoso garantire. L'uso di un conservante dei campioni fecali è altamente raccomandato per preservare la morfologia dei parassiti nelle situazioni in cui i vincoli di tempo per la raccolta, la consegna e l'esame non possono essere ragionevolmente rispettati.

Total-Fix è un fissativo privo di mercurio e formalina e PVA che preserva la morfologia dei parassiti e agevola i laboratori nello smaltimento e nel monitoraggio. È possibile incorporare un flaconcino pulito atto alla raccolta di campioni non conservati per l'esame di grasso fecale, sangue occulto, colture enteriche o amebiche.