

## CONTENUTO DEL KIT

- 1 flaconcino (15 ml) SAF
- 1 flaconcino pulito
- 1 Foglio istruzioni in 10 lingue
- 2 flacone (15 ml) di adesivo albumina

## MATERIALI NON FORNITI

- acetato di etile
- applicatore con punta in cotone
- pipette di trasferimento
- centrifuga
- vetrini portaoggetti e vetrini coprioggetti
- microscopio

## RACCOLTA

1. La raccolta delle feci per la ricerca dei parassiti intestinali deve sempre essere eseguita prima dell'assunzione 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. Le feci devono essere raccolte in un contenitore a imboccatura larga, pulito e asciutto. Una scatola da mezza pinta in cartone cerato è l'ideale; tuttavia è accettabile un cartone da latte pulito e asciutto con i due terzi superiori rimossi. Evitare la contaminazione con urina.
4. Introdurre nel flaconcino piccoli campioni delle feci utilizzando la paletta integrata nel tappo del flaconcino. Prediligere le aree che appaiono ematiche o acquose. 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. Miscelare il contenuto del flaconcino con la paletta. Richiudere il flaconcino, assicurandosi che il tappo sia ben serrato. 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 dei kit 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: Lo scopo di questa procedura è dimostrare la motilità. Pertanto, se nel kit non è incluso un flaconcino pulito, questo passaggio può essere eliminato. Allestire lo striscio miscelando una piccola quantità di materiale fecale (circa 2 mg) con una goccia di soluzione fisiologica o soluzione iodata D'Antoni su un vetrino portaoggetti. Coprire con un vetrino coprioggetti da 22 x 22 mm. Esaminare immediatamente utilizzando l'obiettivo a basso ingrandimento. Gli oggetti sospetti possono essere esaminati con alto ingrandimento a secco.

## Procedura di concentrazione e di colorazione permanente

Miscelare accuratamente il contenuto del flaconcino SAF.

1. Porre in un imbuto uno strato di garza pressata o due strati di garza tessuta. Filtrare circa la metà del contenuto del flaconcino attraverso la garza raccogliendo in una provetta per centrifuga da 15 ml. Aggiungere soluzione fisiologica fino a quando il livello nella provetta è quasi al vertice e centrifugare a 500 xg per 10 minuti.
2. Nella provetta dovrà essere presente circa 1 ml di sedimento. In caso contrario, risospendere il sedimento, aggiungere o eliminare secondo necessità e centrifugare. Decantare. Se il surnatante non è beige chiaro o trasparente, è facoltativo procedere a un secondo lavaggio con soluzione fisiologica. Una manipolazione eccessiva del campione può causare una perdita di organismi.
3. Miscelare il sedimento e allestire un vetrino come segue:
4. Porre una piccola goccia di albumina di Mayer (fornita con ogni confezione di SAF) su un vetrino portaoggetti e distribuire in modo che il vetrino ne rimanga sottilmente rivestito. NB: Un eccesso di albumina sul vetrino produrrà una sfumatura rossastra dopo la decolorazione.
5. Porre un piccolo campione del sedimento sospeso sul vetrino rivestito di albumina. Distribuire il campione sul vetrino per formare uno striscio sottile di spessore variabile. Lasciare asciugare a temperatura ambiente (una volta asciutto, lo striscio apparirà opaco).
6. Procedere con il regime di colorazione scelto. Raccomandiamo l'ematossilina ferrica, sebbene venga utilizzata anche la colorazione tricromica di Gomori. Procedere con la procedura di concentrazione utilizzando il sedimento rimanente.
7. Risospendere il sedimento sul fondo della provetta con formalina 10%, SAF o soluzione fisiologica normale, riempiendo la provetta a metà. Aggiungere circa 3 ml di acetato di etile o

etere etilico e tappare. Tenere la provetta in modo che il tappo sia diretto lontano dal viso e agitare vigorosamente per 30 secondi.

8. Centrifugare a 500 xg per 10 minuti.

9. 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, formalina; quarto, sedimento.

10. Staccare il tappo di detriti con un bastoncino applicatore e decantare tutto il liquido. 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.

11. Risospendere il sedimento restante con alcune gocce di soluzione fisiologica o formalina 10%. Per l'esame microscopico utilizzare come montante soluzione fisiologica o soluzione iodata.

**Se si impiega Para-Sed™ per Para-Fix™, utilizzare la procedura seguente. Se si impiegano Sed-Connect™ o Micro-Sed™, seguire le procedure fornite con questi articoli.**

A. Miscelare accuratamente il contenuto del flaconcino SAF. Procedere seguendo le istruzioni per la processazione del campione specificate nel foglio istruzioni del kit Para-Sed. Introdurre la procedura seguente tra i punti 5 e 6:

B. Con la soluzione fisiologica, portare il livello del liquido nel flaconcino alla linea sulla provetta Para-Sed.

C. Porre il tappo a vite fornito con Para-Sed sulla provetta conica per centrifuga e centrifugare a 500 xg per 2-5 minuti.

D. Versare con cautela il surnatante.

E. Aggiungere una piccola goccia di soluzione fisiologica e miscelare il sedimento con un bastoncino applicatore. Allestire un vetrino come descritto nei punti da 4 a 6 della sezione precedente.

**Strisci sottoposti a colorazione permanente con ematossilina ferrica**

1. Porre il vetrino in alcol 70% per 5 minuti.

2. Lavare con acqua corrente per 2 minuti.

\* 3. Porre in colorante di Kinyoun per 5 minuti.

\* 4. Lavare in acqua corrente per 1 minuto.

\* 5. Porre il vetrino in decolorante acido-alcolico per 4 minuti.

\* 6. Lavare il vetrino in acqua corrente per 1 minuto.

7. Porre nella soluzione di lavoro di ematossilina ferrica (Catalogo MCC n. 6185A e 6188A) per 8 minuti. Preparare la soluzione di lavoro miscelando parti uguali di n. 1 e n. 2. Il colorante miscelato è stabile per una settimana al massimo.

8. Lavare il vetrino in acqua distillata per 1 minuto.

9. Porre il vetrino in soluzione di acido picrico 0.6% (Catalogo MCC n. 733A) per 3-5 minuti.

10. Lavare il vetrino in acqua corrente per 10 minuti.

11. Porre i vetrini in alcol 70% più ammoniacca (Catalogo MCC n. 3800A) per 3 minuti.

12. Porre i vetrini in alcol 95% per 5 minuti.
13. Porre i vetrini in alcol al 100% per 5 minuti.
14. Porre i vetrini in due cambi di xilene (o sostituto dello xilene) per 5 minuti.
15. Montare con il mezzo di montaggio utilizzando un vetrino coprioggetti di spessore n. 1.

\* Se il laboratorio non sta ricercando il *Cryptosporidium*, è possibile omettere questi passaggi.

#### Strisci sottoposti a colorazione permanente con tricromica di Gomori secondo Wheatley

1. Porre il vetrino allestito in alcol etilico 70% per 2-5 minuti.
2. Porre in colorazione tricromica per 10 minuti.
3. Immergere due volte in etanolo 90% con acido acetico 0.5%. Se il vetrino appare pallido, sostituire con etanolo 90%.
4. Porre in due cambi di alcol 100% per 2-5 minuti.
5. Porre in due cambi di xilene o sostituto dello xilene per 5-10 minuti.
6. Montare con il mezzo di montaggio utilizzando un vetrino coprioggetti di spessore n. 1.

#### 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 SAF 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 SAF 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 SAF 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.; Bruchner, D. A.; 1997 Diagnostic Medical Parasitology, 3rd Ed.: ASM Press: Washington D.C.
3. Junod, L. 1972. Technique Coprologique Nouvelle Essentiellement Destinee a la Concentration des Trophozoites d'Amibes. *Bul. Soc. Pathol. Exot.* (1972) 65:390-398.
4. Scholten, T. H.; An Improved Technique for the Recovery of Intestinal Protozoa. *J. Parasitol.* (1972)58:603-634
5. Yang, J.; Scholten, T. H.; 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

	N.
	CATALOGO
Flaconcini Z-PVA™	2802-05
Flaconcini LV-PVA	2803-05
Flaconcini Unifix™	2804-05
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
Sed-Connect™ (con acetato di etile)	693A-E
Tricromica di Gomori sec. Wheatley	602A
Tricromica modificata blu per microsporidi	601A
Ematossilina ferrica n. 1	6185A
Ematossilina ferrica n. 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

# MCC



Medical Chemical Corp.  
 19430 Van Ness Ave.

Torrance, CA 90501

Telefono (310)787-6800

FAX (310)787-4464

CEpartner4U, 3951 DB;

13. NL. tel: +31 (0)6.516.536.26)

SAF

SAF/Pulito

Para-Fix™

#### USO PREVISTO

I kit di raccolta delle feci Para-Fix forniscono 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. Viene fornito un foglio di istruzioni in dieci lingue allo scopo di assistere i pazienti o gli operatori sanitari nell'uso corretto dei kit negli ambienti domiciliari o ospedalieri.

#### RIASSUNTO E SPIEGAZIONE

La diagnosi di infezione parassitaria intestinale è confermata dal recupero 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 non può essere garantita.

Nel 1972 Junod descrisse l'uso della soluzione SAF (acetato di sodio - acido acetico - formalina) come mezzo versatile per la preservazione dei parassiti intestinali. In uno studio su oltre 900 campioni, Scholten e Yang hanno confermato l'idoneità della soluzione SAF all'uso di routine nel laboratorio di parassitologia clinica.

L'uso corretto dei kit SAF assicura la preservazione e la corretta identificazione di tutti gli stadi dei parassiti intestinali. La soluzione SAF consente di eseguire procedure di colorazione permanente e di concentrazione su un singolo campione. È incluso un flaconcino pulito destinato alla raccolta di campioni a fresco, per l'esame di grassi fecali, sangue occulto, colture enteriche o di amebe.

Data di revisione: 14 giugno 2006