

CONTENUTO DEL KIT

100 flaconcini (15 ml) Total-Fix™

1 Foglio istruzioni in 10 lingue

MATERIALI NON FORNITI

Acetato di etile

Bastoncini applicatori e applicatori con punta in cotone

Pipette di trasferimento

Sistema di concentrazione (Sed-Connect™, Para-Sed™, Micro-Sed™)

Centrifuga

Microscopio, vetrini portaoggetti e vetrini coprioggetti

Reagenti per colorazione tricromica

Soluzione fisiologica

Xilene o sostituto dello xilene

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 antidiarroidici 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 PhosphoSoda. 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. Prediligere le 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 serrato. Agitare vigorosamente il flaconcino fino a quando il contenuto non è accuratamente miscelato (la soluzione deve apparire omogenea). Per una fissazione completa, le feci devono permanere in Total-Fix almeno 30 minuti.
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. Sono preferibili i campioni fecali conservati in Total-Fix a temperatura ambiente, ma i campioni refrigerati sono accettabili.

ESAME

L'uso di Total-Fix 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, procedure di concentrazione e la gran parte degli immunodosaggi fecali.

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 conservato in Total-Fix. Allestire lo striscio miscelando una piccola quantità di materiale fecale preservato (circa 2 mg) a una goccia di soluzione fisiologica su un vetrino portaoggetti. 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 Total-Fix.

Rimuovere il tappo dal flaconcino Total-Fix e aggiungere 8-10 gocce di tensioattivo se si effettua un montaggio umido della concentrazione. Richiudere il flaconcino, assicurandosi che il tappo sia ben serrato.

NB: Non utilizzare il tensioattivo se il sedimento verrà impiegato per colorazioni permanenti o immunodosaggio fecale a fluorescenza. Per la preparazione facoltativa dello striscio direttamente dal flaconcino, lasciare che le feci si depositino sul fondo del flaconcino. Rimuovere il materiale fecale direttamente dal fondo del flaconcino utilizzando una pipetta e senza creare bolle. Distribuire questo materiale fecale su un vetrino portaoggetti per la colorazione. Lasciare asciugare per 30-45 minuti a 37 °C o per 60 minuti a temperatura ambiente. Passare alla procedura di colorazione.

Colorazione permanente

1. Miscelare il contenuto del flaconcino agitando vigorosamente o agitando su vortex per 30 secondi.
2. 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.
3. 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 picchiettando seccamente la provetta per centrifuga su un piano di lavoro.
4. Al termine della filtrazione, picchiettare la provetta per centrifuga sul piano di lavoro 2 o 3 volte per assicurarsi che tutto il fluido (Para-Sed) o 1-3 ml di materiale (Sed-Connect) sia colato nella provetta. Inclinare leggermente l'unità filtro. Svitare l'unità concentratore e il flaconcino del campione ed eliminare seguendo le procedure di laboratorio stabilite per i campioni fecali.
5. 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).
6. Decantare. Miscelare il restante sedimento preservato in Total-Fix con un bastoncino applicatore.
7. 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).
8. 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.
- NB:** Poiché Total-Fix non contiene PVA (che fa aderire lo striscio al vetrino), l'utente può aggiungere albumina al vetrino prima di preparare lo striscio del campione fecale. Tuttavia, se lo striscio è completamente asciutto prima della colorazione, l'albumina non dovrebbe essere necessaria.
9. Procedere con il regime di colorazione scelto. Si raccomanda la

colorazione tricromica di Gomori secondo Wheatley; è possibile utilizzare anche ematossilina ferrica.

Procedura alternativa per la preparazione direttamente dal flaconcino

Lasciare che le feci si depositino sul fondo del flaconcino. Rimuovere il materiale fecale dal fondo del flaconcino utilizzando una pipetta e senza creare bolle. Distribuire il materiale fecale sul vetrino e asciugare per circa 30-45 minuti a 37 °C o circa 60 minuti a temperatura ambiente. Passare alla procedura di colorazione.

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 per più di 10 minuti.
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.
5. Allestire con un vetrino coprioggetto e un mezzo di montaggio.

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

1. Al sedimento rimanente dal punto 8 sopra aggiungere soluzione fisiologica 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 rimanente con alcune gocce di soluzione fisiologica.

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 risospeso. Porre un vetrino coprioggetti sul vetrino portaoggetti ed esaminare immediatamente.

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

Miscelare accuratamente il contenuto del flaconcino Total-Fix. Procedere seguendo le istruzioni per l'esame 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 Total-Fix.

2. Filtrare circa 2-3 ml del contenuto fissato attraverso la garza 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 (circa 1/4 di pollice). Decantare il liquido surnatante.

5. Miscelare il sedimento e allestire un vetrino con colorazione permanente (tricromica, AFB modificata, ematossilina ferrica, tricromica modificata) come descritto sopra.

6. Utilizzare il sedimento rimanente per il metodo di concentrazione scelto.

Immunodosaggi fecali

1. Se si utilizza la procedura di test immunoenzimatico (EIA), agitare il flaconcino del campione fecale / Total-Fix e lasciarlo riposare sul piano di lavoro per almeno 5 minuti, quindi prelevare il campione dalla cima del flaconcino (senza materiale particolato fecale). Continuare con la procedura di immunodosaggio fecale.

2. Se si utilizza la procedura a fluorescenza (FA), si veda la nota in "Colorazione permanente e procedura di concentrazione" riguardante l'utilizzo di feci centrifugate (consigliato). Continuare con la procedura di immunodosaggio fecale FA.

3.1 Se si utilizza la procedura rapida/cartuccia/flusso laterale (cartuccia rapida) agitare il flaconcino del campione fecale/Total-Fix e lasciarlo riposare sul piano di lavoro per almeno 5 minuti prima di prelevare il campione dalla cima della fiala (senza materiale particolato fecale). Continuare con la procedura a cartuccia rapida per immunodosaggio fecale.

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 Total-Fix 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 Total-Fix 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 Total-Fix 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. 2016. Diagnostic Medical Parasitology, 6th 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., e 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

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)
Tricromica di Gomori sec. Wheatley	693A-E
Tricromica modificata blu 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 anche:

Coloranti di Gram

Coloranti AFB

Coloranti fluorescenza AFB

Vetrini di controllo qualità Organismi QC



Medical Chemical Corporation 19430 Van Ness Ave.

Torrance, CA 90501

Telefono (310)787-6800

Telefono (800) 424-9394

Fax (310) 787-4464

EC REP CEpartner4U, 3951 DB;

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

Total-Fix™

Sistema di raccolta delle feci

N. catalogo 2807-05

N. brevetto 8,338,130

USO PREVISTO

Il kit di raccolta delle feci Total-Fix 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 Total-Fix è possibile effettuare colorazioni permanenti, concentrazioni e la gran parte degli immunodosaggi fecali. Total-Fix è anche un eccellente conservante di DNA e RNA per i dosaggi molecolari di patogeni fecali. 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 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, l'invio 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 preservati per l'esame di grasso fecale, sangue occulto, colture enteriche o amebiche.

