

TABLE OF CONTENTS

English...	1	Product Codes...	6
Italian...	4	Glossary of Symbols...	6

INTENDED USE

Parasite Recovery System (PRS™) is a complete system for concentration of helminth eggs, larvae and protozoan cysts. Ethyl Acetate and Triton X-100™ are reagents used in the concentration procedure.

SUMMARY

The diagnosis of intestinal parasitic infections requires appropriate collection, transport, concentration, staining and identification of parasites from fecal specimens. A wide variety of sedimentation, concentration, and flotation methods have been described. The formalin-ether sedimentation technique (Ritchie, et al.) has been modified to avoid the flammability, storage and disposal of ether. The modified procedure replaces the ether with ethyl acetate. This procedure can be performed on specimens that have been fixed in Buffered Formalin, SAF, PROTO-FIX®, or on fresh specimens where the recommended fixative has been added during the processing.

The Parasite Recovery System utilizes existing methodologies and standardized components to accommodate specimen preparation for subsequent microscopic examination.

1. The addition of the surfactant to preserved specimens can help reduce the adhesive forces of the mucus, break up the lumps within the sample and increase settling of the parasitic eggs.
2. The PRS funnel/filtration unit has a precision molded filtration screen, which allows helminth eggs, larvae, and protozoan trophozoites and cysts to pass through the screen but retains the larger diameter particulate matter on the top. Most of the macroscopic fecal debris will be discarded with the funnel/filtration unit.
3. Ethyl Acetate is less flammable than ethyl ether and as such, is recommended as a replacement to ether. The Ethyl Acetate will dissolve the fat and aid in the separation of the fecal debris from a concentrated sediment containing parasites, if present in the sample.

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

PRECAUTIONS

1. **CAUTION!** Ethyl Acetate is **FLAMMABLE**. Perform all procedures in a well-ventilated area. Do not allow any open flames or ignition devices in the room when these procedures are being performed. Avoid prolonged breathing of fumes. Avoid skin contact or contact with eyes. Wear gloves and eye protection at all times while performing these procedures.
2. Observe standard Good Laboratory Practices in handling and disposing of bio-hazardous clinical specimens and laboratory reagents. Refer to your facility safety director for specific details.
3. Do not use the product if the expiration date on the reagents has been exceeded.

SPECIMEN COLLECTION & PREPARATION

1. Specimens preserved in Buffered Formalin, SAF, PROTO-FIX, or fresh samples may be processed with the PRS. The specimen must be fixed for a minimum of 60 minutes to assure adequate fixation of the sample. The specimen should be stored at room temperature.
2. An appropriate clinical patient sample, collected, preserved/fixed, and transported properly is important to the recovery of helminth eggs, larvae and protozoan cysts. Please refer to appropriate references for the collection and transport methods.
3. Always mix the sample well.
4. The appropriate volume of sample is 2-3 grams of fecal matter in 13-15 ml of fixative.

PROCEDURE

Materials Provided: PRS Funnels, and/or Triton X-100, and/or ethyl acetate, and/or centrifuge tubes and caps.

Materials Not Provided: Physiological saline, microscope, microscope slides, coverslips, centrifuge, cotton-tipped applicator sticks, pipettes, 10% Buffered Formalin.

SPECIMEN PROCESSING

PROTO-FIX Preserved Specimens

Refer to the PROTO-FIX Directions For Use for recommended processing procedures.

Specimen Processing CONSED® Concentrating Solution

Refer to the CONSED Concentrating Solution Directions For Use for recommended processing procedures.

Ethyl Acetate Method

Unpreserved Specimens

For optimum results, it is recommended that specimens be preserved at the time of collection. Unpreserved specimens delayed in transport may have limited diagnostic value.

1. Transfer 3-5 grams of unpreserved stool into 15 ml preservative of choice. Mix stool with preservative thoroughly and break up any lumps or fecal masses. The stool/preservative mixture should stand for a minimum of 60 minutes for adequate fixation. Follow procedure for use below for the specific fixative.

Immediate Processing of Unpreserved Specimens

1. Transfer 5-6 grams of unpreserved stool into 10-15 ml of physiological saline. Mix stool/saline mixture thoroughly, breaking up any lumps or fecal masses.
2. Add 4 drops of Triton X-100 to the mixture. (Up to 8 drops of Triton X-100 may be added if the specimen is highly mucoid.)
3. Cap and mix the contents thoroughly by shaking.
4. Insert one of the PRS filtering devices into the top of the 15 ml centrifuge tube.
5. Pour fecal suspension through the filtering device into the centrifuge tube. Usually 3 ml in the centrifuge tube is sufficient unless the fecal suspension is thin.
6. Discard filtering device, add 10 ml physiological saline and centrifuge for 10 minutes at 500-600 xg (not rpm). Decant the supernatant fluids, retaining the sediment. About 1 ml of sediment should be present.
7. Resuspend the sediment in 10 ml buffered formalin. Allow mixture to stand for at least 5 minutes before proceeding. (At this point, the mixture in the centrifuge tube may be capped and saved until a later time.)
8. Add approximately 3 ml of Ethyl Acetate. Cap the tube and shake for 30 seconds. Invert the tube while shaking. **CAUTION:** Pressure may build up within the tube during shaking. Carefully release the pressure by opening the cap on the centrifuge tube away from you.
9. Centrifuge the tube for 10 minutes at 500-600 xg. Examination of the tube after centrifugation should reveal 4 distinct layers from the top down: (1) a layer consisting of Ethyl Acetate, (2) a "plug" of fecal debris, (3) a discolored aqueous layer, (4) a sediment layer, containing the parasites.
10. The final sediment remaining should be approximately 0.25 ml. Hold the tube in a vertical position. Free the plug of debris by ringing with a wooden applicator stick. Decant the upper layers, leaving the sediment. Do not turn the tube upright until the sides of the tube have been leaned with cotton-tipped swabs.
11. Transfer a portion of the sediment to a clean glass microscope slide and prepare the mount of choice. Examine microscopically. A portion of the sediment may be used for detection of *Cryptosporidium*. Consult an appropriate reference for proper preparation and examination.

Formalin Preserved Specimens

1. Thoroughly mix the formalized specimen.
2. Add 5 drops of the Triton X-100 reagent to the specimen in the formalin vial.
3. Recap the fixative vial. Mix the fixed specimen with the surfactant thoroughly by shaking 10 to 20 seconds.
4. Appropriately label one side of the 15 ml centrifuge tube. Place the labeled centrifuge tube in a rack and insert one of the PRS funnel/filtration units into the tip of the 15 ml centrifuge tube.
5. Carefully pour the fecal suspension through the filtration device into the centrifuge tube. A minimum of 1 ml of filtered sediment is necessary to achieve a quality specimen. Approximately 3 ml of sediment is usually adequate and up to 10 ml of filtered sediment may be necessary for watery fecal samples. Do not force the fecal/fixative solution through the PRS filtration device.
6. Discard the PRS filtration unit into appropriate disposal container.
7. Add 10 ml of physiological saline to the filtered sample (in the 15 ml centrifuge tube) and centrifuge 500 – 600 xg for 10 minutes.
8. Decant the supernatant, retaining the sediment.
9. Resuspend the sediment to the 9 ml mark on the centrifuge tube with 10% Buffered Formalin and mix the specimen well.
10. Add 4 ml of Ethyl Acetate or substitute. Cap the tube, invert, and shake vigorously for 30 seconds. Remove the cap with care, pointing the tube away from you, since pressure can build up within the tube during shaking.
11. Centrifuge at 500-600 xg for 10 minutes. Following centrifugation, four (4) layers should result (from the top down): (1) Ethyl Acetate, (2) a "plug" of fecal debris and fat, (3) Formalin, (4) Sediment layer.
12. Holding the centrifuge tube in a vertical position, free the plug of debris from the sides of the tube by ringing the tube with a wood applicator stick. Carefully pour the top three layers into an appropriate discard container. While the tube is still tipped in the decanting position, use a cotton-tipped swab to remove debris from the sides of the tube. Do not turn the tube upright until the sides of the tube have been thoroughly cleaned. This step is very important. If the sides are not cleaned thoroughly with the swab, lipid droplets can mix with the sediment, making microscopic examination more difficult.
13. Prepare wet mounts of the sediment on a clean glass microscope slide. Examination should be performed within 30 minutes. If mounts are to be prepared later, a small amount of 10% Buffered Formalin may be added to the sediment tube and tightly capped. Consult appropriate references for the proper examination of the sediment and identification of parasites.

SAF Preserved Specimens

1. Thoroughly mix the preserved specimen.
2. Add 5 drops of the Triton X-100 reagent to the specimen in the SAF vial.
3. Recap the fixative vial. Mix the fixed specimen with the surfactant thoroughly by shaking 10-20 seconds.
4. Appropriately label one of the 15 ml centrifuge tubes. Place the labeled centrifuge tube in a rack and insert one of the PRS funnel/filtration units into the top of the 15 ml centrifuge tube.
5. Carefully pour the fecal suspension through the filtration device into the centrifuge tube. Approximately 3 ml of sediment is usually adequate and up to 10 ml of filtered sediment is necessary for watery fecal samples. Do not force the fecal/fixative solution through the PRS filtration device.
6. Discard the PRS filtration unit into an appropriate disposal container.
7. Add 10 ml of physiological saline to the filtered sample (in the 15 ml centrifuge tube) and centrifuge between 500 - 600 xg for 10 minutes.
8. Decant the supernatant, retaining the sediment.
9. If permanent stained slides are necessary, prepare as follows: (1) Transfer some of the sediment onto a CELL-BOND® Slide or onto a clean glass microscope slide and mix with a drop of Mayer's Albumin (#0003355). (2) Mix the specimen well and smear a film

over the slide. Consult appropriate references for proper staining techniques.

10. Resuspend the sediment to the 9 ml mark on the centrifuge tube with 10% Buffered Formalin and mix the specimen well.
11. Add 4 ml of Ethyl Acetate. Cap the tube, invert the tube and shake vigorously for 30 seconds. Remove the cap with care, pointing the tube away from you, since pressure can build up within the tube during shaking.
12. Centrifuge at 500-600xg for 10 minutes. Following Centrifugation four (4) layers should result (from the top down): (1) Ethyl Acetate, (2) A "plug" of fecal debris, and fat, (3) Formalin, (4) Sediment layer.
13. Holding the centrifuge tube in a vertical position, free the plug of debris from the sides of the tube by ringing the tube with a wood applicator stick. Carefully pour the top three layers into an appropriate discard container. While the tube is still tipped in the decanting position, use a cotton-tipped swab to remove debris from the sides of the tube. Do not turn the tube upright until the sides of the tube have been thoroughly cleaned. This step is very important. If the sides are not cleaned thoroughly with the swab, lipid droplets can mix with the sediment, making microscopic examination more difficult.
14. Prepare wet mounts of the sediment on a clean glass microscope slide. Examination should be performed within 30 minutes. If mounts are to be prepared later, a small amount of 10% Buffered Formalin may be added to the sediment tube and tightly capped. Consult appropriate references for the proper examination of the sediment and identification of parasites.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The Parasite Recovery System (PRS) should provide comparable results to the formalin-ethyl acetate concentration procedure described by Ritchie and as modified by Young, et al.

Notes:

1. If the fresh fecal sample is watery, the specimen should first be centrifuged for 3-5 minutes at 450-500 xg. Carefully decant the supernatant and use the sediment for concentration procedures.
2. The PRS Funnel/Filtration Unit has a precision molded filtration screen, which allows helminth eggs and larvae, and protozoan trophozoites and cysts to pass but retains larger diameter particulate matter on the top of the screen. Most of the macroscopic fecal debris will be discarded with the funnel/filtration unit. With dense fecal samples, the flow rate will be much slower. However, do not force the sample through the filtration device by any method. Such action could damage the filtration unit requiring the sample to have to be retested. Also, scraping or forcing the sample material through the funnel/filtration device may force material through the device which will result in non-standardized sized particulates in the final sediment. This larger size material will make examination more difficult and could make coverslipping difficult.
3. The Trichrome staining method is not recommended for the examination of *Cryptosporidium spp.* The Cryptosporidium Stain Set (#0003357) is recommended.

BIBLIOGRAPHY

1. Burrows, R.B. 1965. "Microscopic Diagnosis of the Parasites of Man." Yale University Press, New Haven.
2. Garcia, L.S., R. Shimizu. 1981. "Comparison of Clinical Results for the use of Ethyl Acetate and Diethyl Ether in the Formalin-ether Sedimentation Technique Performed on Polyvinyl Alcohol Preserved Specimens." J. Clin. Microbiol. 13:709-713.
3. Garcia, L.S., M. Voge. 1990. Diagnostic Clinical parasitology. Am J. Med. Technol. 46:459-467.
4. Melvin, D.M., M.M. Brooke, 1980. Laboratory Proc. for the Diagnosis of Intestinal Parasites. U.S.D.H.E.W. 80:8282 CDC Atlanta, GA.
5. Price, D.L. 1994. Procedure Manual for the Diagnosis of Intestinal Parasites. CRC Press.
6. Ritchie, L.S. 1948. An Ether Sedimentation Technique for Routine Stool Examination. Bull. U.S. Army Med. Dept. 8:326.
7. Yang, J. and T.H. Scholten. 1977. "A Fixative for Intestinal Parasites Permitting the use of Concentration and Permanent Staining Procedures." Am. J. Clin. Pathol. 67:300-304.
8. Young, K.H., S.L. Bullock, D.M. Melvin, and C.L. Spruill. 1979 "Ethyl Acetate as a Substitute for Diethyl Ether in the Formalin-ether Sedimentation Technique." J. Clin. Microbiol. 10:852-853.

CONTACT

CalibreScientific US, Inc. offers a complete line of reagents, stains, and QC1™ Quality Control Slides for AFB, Parasitology, Bacteriology, and Mycology processing, as well as O&P collection systems and concentration devices for Parasitology. For Technical Assistance, email Technical@AlphaTecSystems.com, and for Customer Service, email Sales@AlphaTecSystems.com, or call either [+1] 800.221.6058 (USA) or [+1] 360.260.2779 between 8AM and 4PM Monday through Friday, Pacific Time.

WARRANTY

This product is warranted by CalibreScientific US, Inc. to perform as described in the labeling and literature supplied. CalibreScientific US, Inc. disclaims any implied warranty or merchantability or fitness for any other purpose, and in no event shall CalibreScientific US, Inc. be liable for any consequential damages arising out of aforesaid express warranty.

TRADEMARKS:

CONSED®, CELL-BOND®, PROTO-FIX®, PRS™, and QC1™ are trademarks of CalibreScientific AMER IP LLC., 6201 Trust Dr, Holland, OH 43528.

Indicazioni per l'uso di:
Parasite Recovery System (PRS™)

USO PREVISTO

Alpha-Tec Systems Parasite Recovery System (PRS™) è un sistema completo per la concentrazione di uova di elminti, larve e cisti di protozoi. Nella procedura di concentrazione sono usati i reagenti etilacetato e Triton X-100™.

SUMMARIO

Le diagnosi di infezioni intestinali parassitarie richiedono procedure adeguate di raccolta, trasporto, concentrazione, colorazione e identificazione dei parassiti dai campioni fecali. E' ormai nota una vasta gamma di metodologie di sedimentazione, concentrazione e flottazione. La tecnica di sedimentazione con formalina-etere è stata modificata per evitare l'infiammabilità, la conservazione o lo smaltimento dell'etere. La procedura modificata ha rimpiazzato l'etere con l'etilacetato. Questa procedura può essere effettuata sui campioni che sono stati fissati in formalina tamponata, SAF, PROTO-FIX® o sui campioni freschi in cui è stato aggiunto il fissativo consigliato durante la lavorazione.

PRINCIPI

Il Sistema di Recupero di Parassiti utilizza metodologie esistenti e componenti standardizzati per contenere la preparazione del campione per l'esame microscopico successivo.

1. L'aggiunta del surfattante ai campioni conservati può aiutare a ridurre le forze adesive del muco, disgregare i grumi all'interno del campione e aumentare la sedimentazione delle uova parassitarie.
2. L'unità di filtrazione PRS ha una precisa trama di filtrazione che permette il passaggio di uova e larve di elminti e di cisti di protozoi ma mantiene una trama a diametro più largo nella parte superiore del filtro. La maggior parte dei residui fecali macroscopici vengono eliminati insieme all'unità di filtrazione.
3. L'etilacetato è meno infiammabile dell'etere etilico e, come tale, è raccomandato come sostituto per l'etere. L'etilacetato dissolve i grassi e aiuta la separazione dei residui fecali dal sedimento concentrato che contiene i parassiti, se presenti nel campione.

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

PRECAUZIONI

1. **Solo per uso diagnostico in vitro.** L'utilizzo è limitato solo a personale del laboratorio qualificato e ben addestrato.
2. **ATTENZIONE!** L'etilacetato è INFIAMMABILE. Eseguire tutte le procedure in un'area ben ventilata. Evitare che fiamme libere o dispositivi di accensione siano presenti nella stanza durante l'esecuzione di queste procedure. Evitare la respirazione prolungata dei fumi. Evitare il contatto con la pelle o con gli occhi. Indossare guanti e occhiali protettivi in ogni momento durante l'esecuzione di queste procedure.
3. Osservare le Buone Pratiche di Laboratorio nella gestione e nello smaltimento dei campioni clinici e dei reagenti di laboratorio a rischio biologico. Fare riferimento al responsabile della sicurezza per specifici dettagli.
4. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza dei reagenti.

RACCOLTA & PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

1. Con PRS possono essere processati campioni conservati in formalina tamponata, SAF, PROTO-FIX o campioni freschi. Il campione deve essere fissato per almeno 30 minuti per assicurare una fissazione adeguata del campione. Conservare il campione a temperatura ambiente.
2. Per il recupero di uova di elminti, larve e cisti di protozoi, è importante che il campione clinico del paziente sia appropriato e che venga raccolto, conservato/fissato e trasportato nel modo corretto. Consultare adeguate referenze per i metodi di raccolta e trasporto.
3. Miscelare sempre il campione accuratamente.

4. Il volume appropriato del campione è: 2-3 grammi di materiale fecale in 13-15 ml di fissativo.

PROCEDURA

Materiali non forniti: Soluzione fisiologica, microscopio, vetrini e coprioggetti per microscopio, centrifuga, applicatori a stick con un'estremità di cotone, pipette, formalina tamponata 10%.

PROCESSAMENTO DEL CAMPIONE

Campioni conservati con PROTO-FIX

Per le procedure di lavorazione consigliate fare riferimento alle istruzioni per l'uso di PROTO-FIX.

Processazione del campione con CONSED®

Fare riferimento a Soluzione di Concentrazione CONSED.

Metodo con etilacetato

Campioni non conservati

(Per risultati ottimali si raccomanda la conservazione al momento della raccolta. Campioni non conservati che subiscono ritardi nel trasporto possono avere valore diagnostico limitato.)

1. Trasferire 3-5 grammi di feci in 15 ml del conservante scelto. Miscelare il campione fecale con il conservante e disgregare eventuali grumi o masse presenti nel campione. La miscela feci/conservante deve riposare per almeno 30 minuti per una fissazione adeguata. Seguire la procedura che segue per l'utilizzo del fissativo specifico.

Processamento immediato dei campioni senza conservante

1. Trasferire 5-6 grammi di campione fresco in 10-15 ml di soluzione fisiologica. Miscelare accuratamente feci e fisiologica, disgregando eventuali grumi o masse presenti nel campione.
2. Aggiungere 4 gocce di Triton X-100 alla miscela. (Se il campione è fortemente mucoso possono essere aggiunte fino a 8 gocce).
3. Richiudere e miscelare il contenuto tramite agitazione.
4. Inserire uno dei dispositivi di filtrazione PRS all'estremità di una provetta monouso da centrifuga.
5. Versare la sospensione fecale attraverso il dispositivo di filtrazione nella provetta da centrifuga. Solitamente è sufficiente versare 3 ml nella provetta a meno che la sospensione fecale sia scarsa.
6. Eliminare il dispositivo di filtrazione, aggiungere 10 ml di soluzione fisiologica e centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg (non rpm). Versare il surnatante mantenendo il sedimento. Dovrebbe essere presente 1 ml circa di sedimento.
7. Risospendere il sedimento in 10 ml di formalina tamponata. Lasciare riposare la miscela per almeno 5 minuti prima di procedere. (A questo punto la miscela presente nella provetta da centrifuga può essere chiusa e mantenuta fino a un momento successivo.)
8. Aggiungere circa 3 ml di etilacetato. Chiudere la provetta e agitare per 30 secondi. Invertire la provetta agitando. **ATTENZIONE:** durante l'agitazione può aumentare la pressione all'interno della provetta. Eliminare la pressione, allentando con molta attenzione il tappo tenendo la provetta a distanza.
9. Centrifugare la provetta per 10 minuti a 500-600 xg. L'esame della provetta dopo centrifugazione dovrebbe rivelare 4 strati distinti dall'alto verso il basso: (1) uno strato di etilacetato, (2) uno strato di residui fecali, (3) uno strato acquoso incolore, (4) uno strato di sedimenti contenente i parassiti. Lo strato finale di sedimenti dovrebbe consistere di circa 2,5 ml.
10. Tenere la provetta in posizione verticale. Eliminare i sedimenti dalle pareti della provetta tramite un bastoncino applicatore di legno. Versare gli strati superiori, lasciando il sedimento. Non ruotare la provetta in posizione verticale fino a che le pareti della provetta non sono state pulite con un tampone con l'estremità di cotone.
11. Trasferire una porzione del sedimento su un vetrino pulito per microscopio e allestire la preparazione scelta. Esaminare a microscopio. Una porzione del sedimento può essere utilizzata per la rilevazione del *Cryptosporidium*. Consultare un appropriato riferimento affinché la preparazione e l'esame siano corretti.

Campioni conservati in formalina

1. Miscelare accuratamente il campione nella formalina.
2. Aggiungere 5 gocce di Triton X-100 al campione nella fiala in formalina.
3. Richiudere la fiala con fissativo. Miscelare accuratamente il campione fissato, con il surfattante agitando per 10-20 secondi.
4. Etichettare opportunamente una provetta da 15 ml e posizionarla in un rack. Inserire un'unità di filtrazione PRS sull'estremità della provetta da centrifuga da 15 ml.
5. Versare con attenzione la sospensione fecale attraverso il dispositivo di filtrazione nella provetta da centrifuga. Solitamente sono sufficienti 3 ml di sedimento, mentre sono necessari 10 ml di sedimento filtrato per campioni fecali diarroici. Non forzare il passaggio del campione con fissativo attraverso il dispositivo di filtrazione PRS.
6. Eliminare l'unità di filtrazione PRS in un contenitore adatto allo smaltimento.
7. Aggiungere 10 ml di soluzione fisiologica al campione filtrato (nella provetta da 15 ml) e centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg.
8. Versare il surnatante mantenendo il sedimento.
9. Risospendere il sedimento nella provetta da centrifuga con 10 ml di formalina tamponata al 10% e miscelare accuratamente.
10. Aggiungere 4 ml di etilacetato. Chiudere la provetta, invertirla e agitare vigorosamente per 30 secondi. Poiché la pressione all'interno della provetta può aumentare durante l'agitazione, togliere il tappo con molta attenzione tenendo a distanza la provetta.
11. Centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg. Dopo la centrifugazione dovrebbero formarsi quattro (4) strati (dall'alto verso il basso): (1) etilacetato, (2) residui fecali e grasso, (3) formalina, (4) strato di sedimenti.
12. Tenendo la provetta in posizione verticale, eliminare i sedimenti dalle pareti della provetta tramite un bastoncino applicatore di legno. Versare con delicatezza i primi tre strati in un contenitore appropriato per lo smaltimento. Mentre la provetta è ancora inclinata, usare un tampone con l'estremità di cotone per rimuovere i residui rimanenti dalle pareti della provetta. Non ruotare la provetta in posizione verticale fino a che le pareti della provetta non sono state completamente pulite. Questo passaggio è molto importante. Se le pareti non vengono pulite a fondo con il tampone, gocce lipidiche potrebbero mescolarsi con il sedimento rendendo più difficile l'esame microscopico.
13. Allestire la preparazione del sedimento su un vetrino pulito per microscopio. La lettura deve essere effettuata entro 30 minuti. Se l'allestimento dei vetrini deve essere effettuato in un secondo momento, aggiungere al sedimento un piccolo quantitativo di formalina tamponata al 10% e chiudere la provetta. Consultare i riferimenti appropriati per un adeguato esame del sedimento e una corretta identificazione dei parassiti.

Campioni conservati in SAF

1. Miscelare accuratamente il campione conservato.
2. Aggiungere 5 gocce di Triton X-100 al campione nella fiala in SAF.
3. Richiudere la fiala con fissativo. Miscelare accuratamente il campione fissato con il surfattante agitando per 10-20 secondi.
4. Etichettare opportunamente una provetta da 15 ml e posizionarla in un rack. Inserire un'unità di filtrazione PRS sull'estremità della provetta da centrifuga da 15 ml.
5. Versare con attenzione la sospensione fecale attraverso il dispositivo di filtrazione nella provetta da centrifuga. E' necessario almeno 1 ml di sedimento per ottenere un campione di qualità. Solitamente sono sufficienti 3 ml di sedimento, mentre sono necessari 10 ml di sedimento filtrato per campioni fecali diarroici. Non forzare il passaggio del campione con fissativo attraverso il dispositivo di filtrazione PRS™.
6. Eliminare l'unità di filtrazione PRS in un contenitore adatto allo smaltimento.
7. Aggiungere 10 ml di soluzione fisiologica al campione filtrato (nella provetta da 15 ml) e centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg.
8. Versare il surnatante mantenendo il sedimento.

9. Se sono necessari vetrini con colorazione permanente, procedere come segue: (1) trasferire parte del sedimento su un vetrino CELL-BOND® o su un vetrino pulito per microscopio e miscelare con una goccia di Albumina di Mayer (#0003355) o di soluzione di rivestimento per vetrini Slide Coating Solution (#0004120). Miscelare accuratamente il campione e distribuirne un film sul vetrino. Consultare opportuni riferimenti per le tecniche di colorazione corrette.
10. Risospendere il sedimento nella provetta da centrifuga con 9 ml di formalina tamponata al 10% e miscelare accuratamente.
11. Aggiungere 4 ml di etilacetato. Chiudere la provetta, invertirla e agitare vigorosamente per 30 secondi. Poiché la pressione all'interno della provetta può aumentare durante l'agitazione, togliere il tappo con molta attenzione tenendo a distanza la provetta.
12. Centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg. Dopo la centrifugazione dovrebbero formarsi quattro (4) strati (dall'alto verso il basso): (1) etilacetato, (2) residui fecali e grasso, (3) formalina, (4) strato di sedimenti.
13. Tenendo la provetta in posizione verticale, eliminare i sedimenti dalle pareti della provetta tramite un bastoncino applicatore di legno. Versare con delicatezza i primi tre strati in un contenitore appropriato per lo smaltimento. Mentre la provetta è ancora inclinata, usare un tampone con l'estremità di cotone per rimuovere i residui rimanenti dalle pareti della provetta. Non ruotare la provetta in posizione verticale fino a che le pareti della provetta non sono state completamente pulite. Questo passaggio è molto importante. Se le pareti non vengono pulite a fondo con il tampone, gocce lipidiche potrebbero mescolarsi con il sedimento rendendo più difficile l'esame microscopico.
14. Allestire la preparazione del sedimento su un vetrino pulito per microscopio. La lettura deve essere effettuata entro 30 minuti. Se l'allestimento dei vetrini deve essere effettuato in un secondo momento, aggiungere al sedimento un piccolo quantitativo di formalina tamponata al 10% e bloccare la provetta. Consultare i riferimenti appropriati per un adeguato esame del sedimento e una corretta identificazione dei parassiti.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI PERFORMANCE

Il Sistema per il Recupero dei Parassiti (PRS) fornisce risultati comparabili con la procedura di concentrazione formalina-etilacetato.

Note:

1. Se il campione fecale fresco è diarroico, prima di tutto bisogna centrifugarlo per 3-5 minuti a 450-500 xg. Versare attentamente il surnatante e utilizzare il sedimento per le procedure di concentrazione.
2. L'unità di filtrazione PRS ha una precisa trama di filtrazione che permette il passaggio di uova e larve di elminti e di cisti di protozoi ma mantiene una trama a diametro più largo nella parte superiore del filtro. La maggior parte dei residui fecali macroscopici vengono eliminati insieme all'unità di filtrazione. Con campioni fecali densi il flusso risulterà molto più lento. In ogni caso, non forzare in nessuna maniera il flusso attraverso l'unità di filtrazione. Questa forzatura potrebbe danneggiare l'unità di filtrazione con l'obbligo di testare un'altra volta il campione. Inoltre, la raschiatura o la forzatura del campione attraverso il dispositivo di filtrazione può causare il passaggio di materiale attraverso il filtro che si tradurrà nella presenza di particelle di dimensioni non standardizzate nel sedimento finale. Questo materiale più grande rende l'esame più difficile da esaminare e può rendere difficoltosa anche l'applicazione dei vetrini coprioggetto.
3. Il metodo di colorazione tricromica non è consigliato per l'esame di *Cryptosporidium* spp. Si consiglia il set di colorazione per *Cryptosporidium* (#0003357).

BIBLIOGRAFIA

1. Burrows, R.B. 1965. "Microscopic Diagnosis of the Parasites of Man." Yale University Press, New Haven.
2. Garcia, L.S., R. Shimizu. 1981. "Comparison of Clinical Results for the use of Ethyl Acetate and Diethyl Ether in the Formalin-ether Sedimentation Technique Performed on Polyvinyl Alcohol Preserved Specimens." J. Clin. Microbiol. 13:709-713.
3. Garcia, L.S., M. Voge. 1990. Diagnostic Clinical parasitology. Am J. Med. Technol. 46:459-467.
4. Melvin, D.M., M.M. Brooke, 1980. Laboratory Proc. for the Diagnosis of Intestinal Parasites. U.S.D.H.E.W. 80:8282 CDC Atlanta, GA.
5. Price, D.L. 1994. Procedure Manual for the Diagnosis of Intestinal Parasites. CRC Press.
6. Ritchie, L.S. 1948. An Ether Sedimentation Technique for Routine Stool Examinations. Bull. U.S. Army Med. Dept. 8:326.
7. Yang, J. and T.H. Scholten. 1977. "A Fixative for Intestinal Parasites Permitting the use of Concentration and Permanent Staining Procedures." Am. J. Clin. Pathol. 67:300-304.
8. Young, K.H., S.L. Bullock, D.M. Melvin, and C.L. Spruill. 1979. "Ethyl Acetate as a Substitute for Diethyl Ether in the Formalin-ether Sedimentation Technique." J. Clin. Microbiol. 10:852-853.

CONTATTI

CalibreScientific US, Inc. offre una linea completa di reagenti, sistemi di colorazione, vetrini per il Controllo Qualità, Sistemi di raccolta O&P e concentrazione per Parassitologia. Per contattare l'assistenza tecnica o il servizio clienti, inviare un messaggio e-mail all'indirizzo Sales@AlphaTecSystems.com oppure chiamare il numero [+1] 800.221.6058 o il numero [+1] 360.260.2779 tra le 8 e le 16 dal lunedì al venerdì, ora del Pacifico. Riferimenti distributore: 'Arnika srl Diagnostic Line – tel. 02.26880211 – fax 02.26880299 – info@arnika.net.

GARANZIA

CalibreScientific US, Inc. garantisce la conformità delle prestazioni di questo prodotto a quanto descritto nelle etichette e nella documentazione fornita. CalibreScientific US, Inc. declina ogni garanzia implicita, nonché di commerciabilità o idoneità a un determinato scopo, e in nessun caso CalibreScientific US, Inc. stems, Inc. sarà responsabile di danni consequenziali o incidentali non contemplati dalla suddetta garanzia esplicita

MARCHI:

CONSED®, CELL-BOND®, PROTO-FIX®, PRS™, e QC1™ Slides sonomarchi di CalibreScientific AMER IP LLC., 6201 Trust Dr, Holland, OH 43528.

PRODUCT CODES

0003344 Ethyl Acetate, 1 x 500 ml
0003358 Triton X-100, 20%, 2 x 30 ml
0004043 Parasite Recovery System, 100 Sets
0004044 Parasite Recovery System, 100 Funnels
0004045 Parasite Recovery System, 100 Sets



Manufactured by CalibreScientific US, Inc.
1311 SE Cardinal Court, Suite 170
Vancouver, WA 98683 USA



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany



GLOSSARY OF SYMBOLS



Batch code / Numéro de lot / Número de Lote / Numero di lotto / Lot Nummer / Lotnummer / Lotnummer / Šaržna številka / Número de lote



Catalog number / Référence du catalogue / Número de catálogo / Numero di catalogo / Katalognummer / Catalog number / Het aantal van de catalogus / Kataloška številka / Número de catálogo



In vitro diagnostic medical device / Pour usage diagnostique in vitro / Para uso diagnóstico in vitro solamente / Solo per uso diagnostico in vitro / Nur zur Verwendung als in vitro-Diagnostikum / Alleen voor in vitro diagnostisch gebruik / För invitrodiagnostik enbart / Samo za invitro diagnostiko / Apenas para uso em diagnóstico in vitro



Authorized representative in the European Community / Représentant européen autorisé / Representante Europeo Autorizado / Rappresentante europeo autorizzato / Autorisierter Europäischer Repräsentant / Germachtigde Europese vertegenwoordiger / Auktoriserad europeisk representant / Pooblaščen evropski predstavnik / Representante Europeu Autorizado



Use-by date / Utiliser avant la date de péremption indiquée / Use antes de la fecha indicada / Utilizzare entro la data indicata / Bis zum angegebenen datum verbrauchen / Gebruik door vermelde datum / Använd innan angivet datum / Porabiti do navadenega datuma / Usar até à data indicada



Manufacturer / Fabricant / Fabricante / Produttore / Hersteller / Fabrikant / Fabrikant / Proizvajalec / Fabricante



Caution / Attention / Cuidado / Attenzione / Achtung / Voorzichtig / Iakttag försiktighet / Previdno / Atenção



Temperature limit / Conserver aux températures indiquées / Almacene entre las temperaturas indicadas / Conservare a temperatura comprese fra quelle indicate / Im angegebenen temperaturbereich aufbewahren / Opslaan bij een temperatuur tussen / Förvara mellan angivna temperaturer / Shranjevali med navedenimi temperaturami / Armazene entre as temperaturas indicadas



Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Contiene suficiente para <n> pruebas / Contenido suficiente per <n> tests / Enthält ausreichend für <n> untersuchungen / Inhoud voldoende voor <n> testen / Innehåller tillräckligt för <n> tester / Vsebinsa zadostuje za <n> testov / Contém quantidade suficiente para <n> testes



Consult instructions for use / Consulter la notice d'utilisation / Consulte las instrucciones para el uso / Consultare le istruzioni per l'uso / Bitte beachten Sie die Anwendungsvorschriften / Raadpleeg instructies voor gebruik / Konsultera bruksanvisningen innan användning / Glej navodila za uporabo / Consulte instruções para o uso



Do not reuse / Ne pas réutiliser / No reutilizar / Non riutilizzare / Nicht wiederverwenden / Niet hergebruiken / Återanvänd inte / Ne uporabljajte znova / Não reutilize