

**TABLE OF CONTENTS**

English...	1	Product Codes...	11
Spanish	4	Glossary of Symbols...	11
Italian...	8		

**INTENDED USE**

PARA-PRO<sup>®</sup> fc50 is a system for the concentration of helminth eggs, larvae, protozoa, coccidian oocysts, and microsporidia spores from preserved (fixed) fecal specimens. PARA-PRO fc50 is designed to be used with PROTO-FIX<sup>®</sup>, 10% formalin, or SAF. When used with collection fixative vials, PARA-PRO fc50 will form a closed filtration system for the pre-filtration step of the concentration procedure. PARA-PRO fc50 was designed to filter the entire specimen prior to reagent concentration steps.

**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 PARA-PRO fc50 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. 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.

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 PROTO-FIX, buffered formalin, SAF, or on fresh specimens where the recommended fixative has been added during the processing. 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**

- To be used by trained, qualified laboratory personnel only. 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.
- Do not use the product if the expiration date on the reagents has been exceeded.
- 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.

**STABILITY AND STORAGE**

The PARA-PRO fc50 filtration units are stable to the stated expiration date when stored at the required temperature. Store at room temperature (15-30°C). Avoid excessive heat and sunlight.

**USER QUALITY CONTROL**

The PARA-PRO fc50 should be examined for integrity of the device, i.e., the device should not be cracked, the filtration cone should have a consistent hole opening pattern (no blockage of filtration holes), and the airway holes at the top of the filtration cone should be free of residual plastic. Any device showing irregularities should not be used.

**SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

- Specimens preserved in PROTO-FIX, buffered formalin, or SAF may be processed with the PARA-PRO fc50. 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.
- 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. To fix unpreserved specimens, transfer 2–3 grams of unpreserved stool into 13–15 ml of one of the preservatives listed above. 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.
- An appropriate clinical patient sample, collected, preserved/fixed, and transported properly is important to the recovery of helminth eggs, larvae, and protozoan trophozoites and cysts. Please refer to appropriate references for the collection and transport methods.
- Always mix the sample well.
- The appropriate volume of sample is 2–3 grams of fecal matter in 13–15 ml of fixative.

**PROCEDURE**

**Materials Provided:** PARA-PRO fc50 filtration units, 50 ml and 15 ml centrifuge tubes and caps, Triton X-100.

**Materials Not Provided:** Microscope, saline, microscope slides and cover slips, centrifuge, cotton-tipped applicator sticks, pipettes, PROTO-FIX (#0004600) or other fixative, CONSED<sup>®</sup> Concentration Reagent (#0004628) or equivalent, ethyl acetate or equivalent, physiological saline.

**SPECIMEN PROCESSING****Filtration**

- Thoroughly mix the specimen fixed in PROTO-FIX, buffered formalin, or SAF by shaking the specimen/fixative vial.
- Add 4–5 drops of the Triton X-100 to the specimen/fixative vial (up to 8 drops may be added if the specimen is highly mucoid).
- Re-cap the fixative vial and mix the specimen with the surfactant thoroughly by shaking for 20 to 30 seconds.
- Appropriately label one side of the 50 ml receiver centrifuge tube. With the 50 ml centrifuge tube attached to the PARA-PRO fc50 filtration unit, insert the open end of the filtration unit into the fixative/specimen vial and twist slightly until the seal is tight. Tighten the 50 ml centrifuge tube onto the PARA-PRO fc50 filtration unit.
- Invert the tube and filter the specimen through the PARA-PRO fc50 filtration unit into the 50 ml centrifuge tube. If the flow does not begin immediately, sharply tap the 50 ml centrifuge tube on the counter top.
- After the filtration is complete, tap the 50 ml centrifuge tube on the counter top 2–3 times. Tilt the filtration unit at a slight angle and unscrew the PARA-PRO fc50 and specimen vial from the 50 ml centrifuge tube and discard into appropriate disposal container following established laboratory procedures for fixed fecal specimens.
- Prepare the wet mount by placing 1 drop of the filtered specimen onto a clean glass slide. Add a drop of iodine solution (Lugol's Iodine or Dobell & O'Connor's Iodine) to the specimen, mix gently and coverslip. Examine the slide microscopically for ova, helminths, and parasites. Consult appropriate references for the identification of ova and parasites.
- The resulting filtered specimen can be further concentrated to improve recovery of ova and parasites. See below for the appropriate procedures for each fixative.
- Refer to the Directions for Use for the specific fixative used regarding the staining of permanent mounts from the filtered specimen.

**Concentration/Sedimentation Procedures:****PROTO-FIX Preserved Specimens****CONSED Concentration Procedure**

**NOTE:** PROTO-FIX fixative is a clear, colorless one vial processing fixative for wet preparations, permanent stains, concentrations, DFA and EIA methodologies for fecal specimens used in the diagnosis of intestinal parasites. PROTO-FIX is a low alcohol, low viscosity fixative that contains no heavy metals, PVA or aniline dyes. The CONSED Concentration Reagent is recommended as it increases the recovery of ova, helminths, and parasites. In addition, the PROTO-FIX/CONSED concentration procedure increases laboratory efficiencies and the diagnostic value of the permanent stain, as the permanent smear of specimens that have been fixed in PROTO-FIX can be performed from the CONSED concentrated pellet.

1. Pour 2 ml of the filtered specimen into a 15 ml centrifuge tube. To the 2 ml of the filtered PROTO-FIX fixed specimen, add 8 ml of the CONSED reagent and 4 ml of ethyl acetate (or replacement reagent) to the sample in the centrifuge tube. Cap the tube, invert the tube and shake vigorously for 30 seconds. Pressure will build up within the tube during shaking. To remove this pressure, loosen the cap carefully and retighten the cap prior to centrifugation.
2. Place the capped centrifuge tubes into the centrifuge (with a free swinging head) and centrifuge for 10 minutes at 500–600 xg. Following centrifugation, four layers will develop:
  - a) A top layer of mostly ethyl acetate
  - b) An interface layer of fatty fecal debris
  - c) A lower solution layer
  - d) A pellet / sediment layer
3. Holding the centrifuge tube in a vertical position, remove the cap, and free the plug of debris from the sides of the tube by ringing the tube with a wooden applicator stick. Carefully pour the top three layers into an appropriate waste container. **NOTE:** If the pellet begins to break up, quickly upright the tube to save the pellet and carefully aspirate any residual reagent off of the pellet with a pipette. While the tube is still tipped in the decanting position, use cotton-tipped swabs to remove remaining debris and ethyl acetate from the sides of the tube. Do not turn the tube upright until the sides of the tube have been thoroughly cleaned of the reagent solutions. If the sides are not cleaned thoroughly with the swab, lipid droplets can mix with the sediment pellet making the microscopic examination more difficult. Allowing excess ethyl acetate to run back into the pelleted sediment will result in a poor wet mount preparation due to the formation of solvent bubbles.
4. Add 3–6 drops (or an amount equal to the volume of the pellet) of PROTO-FIX. Using an applicator stick, thoroughly mix the PROTO-FIX with the pellet. **NOTE:** The smear for the permanent stain and slides for special stains can be made at this point in the procedure. See the section header “Preparing Slides for Smears”, and “Miscellaneous Procedures” in the PROTO-FIX Directions For Use.
5. Prepare the wet mount by placing 1 drop of the pellet prepared in step #4 onto a clean glass slide. Add a drop of iodine solution (Lugol’s Iodine or Dobell & O’Connor’s Iodine) to the specimen, mix gently and coverslip. Examine the slide microscopically for ova, helminths and parasites. Consult appropriate references for the identification of ova and parasites.

**Concentration/Sedimentation Procedures:****PROTO-FIX Preserved Specimens****Formalin/Ethyl Acetate Concentration Procedure**

**NOTE:** The formalin/ethyl acetate concentration procedure is not the recommended for use with specimens fixed in PROTO-FIX. Using the formalin / ethyl acetate procedure will reduce the number and variety of parasites in the concentrated sample and will prevent the recovery of any trophozoites present. Using the PROTO-FIX/CONSED concentration procedure (listed previously) will significantly improve organism recovery in the concentrated sample and is strongly recommended.

1. Pour 3 ml of the filtered specimen into a 15 ml centrifuge tube. To the 3 ml of the filtered PROTO-FIX fixed specimen, add 7 ml of 10% buffered formalin and mix the specimen.
2. Add 4 ml of ethyl acetate (or replacement reagent) to the sample in the centrifuge tube. Cap the tube, invert the tube and shake vigorously for 30 seconds. Pressure will build up within the tube during shaking. To remove this pressure, loosen the cap carefully, and retighten the cap prior to centrifugation.
3. Place the capped centrifuge tubes into the centrifuge (with a free swinging head) and centrifuge for 10 minutes at 500–600 xg. Following centrifugation, four layers will develop:
  - a) A top layer of mostly ethyl acetate
  - b) An interface layer of fatty fecal debris
  - c) A lower solution layer
  - d) A pellet / sediment layer
4. Holding the centrifuge tube in a vertical position, remove the cap, free the plug of debris from the sides of the tube by ringing the tube with a wooden applicator stick. Carefully pour the top three layers into an appropriate waste container. **NOTE:** If the pellet begins to break up, quickly upright the tube to save the pellet and carefully aspirate any residual reagent off of the pellet with a pipette. While the tube is still tipped in the decanting position, use cotton-tipped swabs to remove remaining debris and ethyl acetate from the sides of the tube. Do not turn the tube upright until the sides of the tube have been thoroughly cleaned of the reagent solutions. If the sides are not cleaned thoroughly with the swab, lipid droplets can mix with the sediment pellet making the microscopic examination more difficult. Allowing excess ethyl acetate to run back into the pelleted sediment will result in a poor wet mount preparation due to the formation of solvent bubbles.
5. Add a few drops of PROTO-FIX to the pellet and mix well.
6. Prepare the wet mount by placing 1 drop of the sediment prepared in step #5 onto a clean glass slide. Add a drop of iodine solution (Lugol’s Iodine or Dobell & O’Connor’s Iodine) to the specimen, mix gently and coverslip. Examine the slide microscopically for ova, helminths and parasites. Consult appropriate references for the identification of ova and parasites.

**Concentration/Sedimentation Procedures:****Formalin or SAF Preserved Specimens****Formalin / Ethyl Acetate Concentration Procedure**

1. Add 10 ml saline to the filtered sample (in the 50 ml centrifuge tube) and centrifuge 500–600 xg for 10 minutes.
2. Decant the supernatant, retaining the sediment.
3. Resuspend the sediment with 10 ml of 10% buffered formalin and mix the specimen well.
4. Add 5 ml of ethyl acetate or substitute. 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.
5. Centrifuge at 500–600 xg for 10 minutes. Following centrifugation, four layers will develop:
  - a) A top layer of ethyl acetate
  - b) An interface layer of fatty fecal debris
  - c) A formalin layer
  - d) A pellet/sediment layer
6. 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. If the sides are not cleaned thoroughly with the swab, lipid droplets can mix with the sediment making the examination much more difficult.
7. Prepare wet mount 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 and the tube capped off.

Consult appropriate references for the proper examination of the sediment and identification of parasites.

**SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

Parasite	n=	10% formalin		SAF		PROTO-FIX		Recovery Improvement with PARA-PRO FC50	
		PARA-PRO FC50	Para-Pak <sup>™</sup> Macro-CON	PARA-PRO FC50	Para-Pak <sup>™</sup> Macro-CON	PARA-PRO FC50	Para-Pak <sup>™</sup> Macro-CON		
<i>A. lumbricoides</i>	15	3.7	1.5	1.5	0.9	5.5	2.7	+ 100%	p<.0001
<i>B. hominis</i>	3	27.4	18.8	15.8	12.6	36.5	22.9	+ 59%	p<.0001
<i>C. mesili</i>	1	7	3	4	0	11	5	n.d.	n.d.
<i>D. fragilis</i>	3	0	0	0	0	4.6	2.3	n.d.	n.d.
<i>E. coli</i>	24	13.5	8.8	7.4	4.7	21.5	13	+ 66%	p<.0001
<i>E. nana</i>	11	8.6	5	3.5	1.8	12.3	0.4	+ 67%	p<.0001
<i>E. histolytica</i>	7	10.3	7.1	6.7	4.3	14.9	10	+ 49%	p<.0004
<i>G. lamblia</i>	7	19.9	15.4	12.9	9.4	26.8	19.1	+ 40%	p<.0012
Hookworm	29	2.9	1.3	1.1	0.5	3.9	1.6	+ 144%	p<.0001
<i>I. buschlii</i>	5	10.4	7.2	6	3.8	17.2	10.4	+ 65%	p<.0008
<i>S. stercoralis</i>	7	0	0	0	0	1.9	0.11	n.d.	n.d.
<i>T. trichiura</i>	6	3.5	1.8	1.6	1	5	2.3	+ 116%	p<.0030

Average parasites recovered per 50 microliter specimen  
n = number of positive samples

The sensitivity and specificity of any O&P analysis is determined by the technique and experience of the product user; however, the PARA-PRO fc50 was shown in a clinical study to improve sensitivity without affecting specificity. In an examination of 51 fecal specimens obtained during a Washington State University study, the efficiency of the PARA-PRO fc50 was compared to the closest established device, the Para-Pak<sup>®</sup> Macro-CON<sup>®</sup> (Meridian Bioscience). Each specimen was divided into three portions, each preserved in different fixatives - 10% formalin, SAF and PROTO-FIX. Each fixed specimen was further divided and concentrated with each device, after which ova and parasites were quantified by microscopic examination of 50 microliter of concentrate. The results of this study (see chart), show that the PARA-PRO fc50 can improve the yield of a wide range of intestinal parasites over that achieved with a similar device. Regardless of the fixative used, dramatic and significant improvement in recovery was observed with the PARA-PRO fc50 and in several samples this was a limiting factor in the observance of low-population parasites. For example, in six of seven positive samples, *S. stercoralis* was only observed with the combined use of PARA-PRO fc50 and PROTO-FIX.

The PARA-PRO fc50 provides 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 PARA-PRO fc50 unit has a precision molded filtration screen, which allows helminth eggs and larvae, and protozoan cysts and trophozoites to pass but retains larger diameter particulate matter on 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 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.

**BIBLIOGRAPHY**

1. Burrows, RB. Microscopic Diagnosis of the Parasites of Man. Yale University Press, New Haven, CT. 1965
2. Garcia, LS, Voge, M. Diagnostic Clinical Parasitology. Am J Med. Technol. 1990. 46:459-467.
3. Garcia, LS, Shimizu, R. 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. 1981. 13:709-713.
4. Melvin, DM, Brooke, MM. Laboratory Procedures for the Diagnosis of Intestinal Parasites. USDHEW (CDC) 1980. 80:8282
5. Price, DL. Procedure Manual for the Diagnosis of Intestinal Parasites. CRC Press, Boca Raton, FL. 1994.
6. Ritchie, LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. Bull. U.S. Army Med. Dept. 1948. 8:326.
7. Yang, J, and Scholten, TH. A fixative for intestinal parasites permitting the use of concentration and permanent staining procedures. Am J Clin Pathol. 1977. 67:300-304.
8. Young, KH, et al. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. J Clin Microbiol. 1979 10:852-853.

**CONTACT**

Alpha-Tec Systems, Inc. offers a complete line of reagents, stains, and QC1<sup>™</sup> 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](mailto:Technical@AlphaTecSystems.com), and for Customer Service, email [Sales@AlphaTecSystems.com](mailto: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 Alpha-Tec Systems, Inc. to perform as described in the labeling and literature supplied. Alpha-Tec Systems, Inc. disclaims any implied warranty or merchantability or fitness for any other purpose, and in no event shall Alpha-Tec Systems, Inc. be liable for any consequential damages arising out of aforesaid express warranty

**TRADEMARKS:**

CONSED<sup>®</sup>, PARA-PRO<sup>®</sup>, PROTO-FIX<sup>®</sup>, and QC1<sup>™</sup> are trademarks of Alpha-Tec Systems, Inc., 1311 SE Cardinal Court, Suite 170, Vancouver, WA 98683 USA.

Instrucciones de uso para los siguientes lugares:  
PARA-PRO® fc-50

### APLICACIÓN

PARA-PRO® fc-50 de Alpha-Tec Systems es un sistema para la concentración de huevos de helmintos, larvas, protozoarios, oquistes de coccidios y esporas de microsporidios a partir de especímenes fecales preservados (fijados). PARA-PRO fc-50 está diseñado para ser usado con PROTO-FIX®, formalina al 10% o SAF. Cuando se utiliza con viales para fijación de muestras, PARA-PRO fc-50 formará un sistema de filtración cerrado para la etapa de prefiltrado del procedimiento de concentración. PARA-PRO fc-50 está diseñado para el filtrado de la totalidad del espécimen antes de las etapas de concentración del reactivo.

### RESUMEN

El diagnóstico de las infecciones parasitarias requiere una adecuada recolección, transporte, concentración, tinción e identificación de los parásitos a partir de especímenes fecales. Se ha descrito una gran variedad de procedimientos de sedimentación, concentración y flotación. La técnica de sedimentación de formalina-éter ha sido modificada para evitar la inflamabilidad, almacenamiento y eliminación del éter. Este procedimiento reemplaza la técnica de éter con acetato de etilo. Puede emplearse en especímenes fijados en PROTO-FIX, formalina diluida, SAF, o en especímenes frescos donde se haya agregado el fijador sugerido durante el procesamiento.

### FUNDAMENTOS

PARA-PRO fc-50 utiliza metodologías existentes y elementos estandarizados para facilitar la preparación de especímenes para su posterior examen microscópico.

1. El agregado de surfactantes a los especímenes preservados puede ayudar a reducir las fuerzas adhesivas del mucus, a disgregar los grumos de la muestra e incrementar la sedimentación de los huevos de los parásitos.
2. La unidad de filtrado PARA-PRO fc-50 tiene un filtro moldeado de precisión que permite el pasaje de los huevos de helmintos, las larvas y los quistes de protozoarios por el filtro pero que retiene las partículas de mayor tamaño en la parte superior. La mayor parte de los residuos fecales macroscópicos serán desechados con el embudo/unidad de filtrado.
3. El acetato de etilo es menos inflamable que el éter etílico y, en consecuencia, se lo recomienda como reemplazante del éter. El acetato de etilo disolverá la grasa y contribuirá a la separación de las partículas fecales del sedimento concentrado con los parásitos, si se encuentran en la muestra.

### PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO SOLAMENTE

#### PRECAUCIONES

1. Puede ser empleado únicamente por personal de laboratorio calificado.
2. **¡ADVERTENCIA!** El acetato de etilo es **INFLAMABLE**. Realice todos los procedimientos en un área bien ventilada. Al realizar estos procedimientos, asegúrese de que no haya llamas abiertas o dispositivos de encendido en la habitación. Evite la inhalación prolongada de los vapores. Evite el contacto con la piel u ojos. Mientras lleve a cabo el procedimiento, use guantes y protectores oculares todo el tiempo.
3. Observe las Buenas Prácticas de Laboratorio al manipular y desechar los especímenes clínicos y reactivos de laboratorio que presenten riesgos biológicos. Por información detallada, consulte con el Director de Seguridad de su centro.
4. No use el producto después de la fecha de vencimiento de los reactivos.

### ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Las unidades de filtración PARA-PRO fc-50 almacenadas a la temperatura requerida se mantienen estables hasta la fecha de vencimiento. Almacenar a temperatura ambiente (15-30°C). Evitar el exceso de calor y luz solar.

### CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

El técnico de laboratorio que lleve a cabo los procedimientos debe examinar el PARA-PRO fc-50 para verificar la integridad de la unidad; es decir, que la unidad no tenga rajaduras, el cono de filtración tenga un patrón de orificios uniforme (sin obstrucciones ni agujeros en el filtro) y los orificios de la parte superior del cono de filtración estén libres de residuos plásticos. No debe utilizarse ningún dispositivo que muestre irregularidades.

### RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS ESPECÍMENES

1. Los especímenes preservados en PROTO-FIX, formalina diluida, SAF o las muestras frescas pueden procesarse con el PARA-PRO fc-50. El espécimen debe haber sido fijado por 30 minutos como mínimo para asegurar la fijación adecuada de la muestra. El espécimen debe ser almacenado a temperatura ambiente.
2. Una muestra clínica apropiada del paciente, adecuadamente recolectada, preservada/fijada y transportada es fundamental para la recuperación de los huevos de helmintos, larvas y quistes de protozoarios. Consulte las referencias pertinentes para los métodos de recolección y transporte.
3. Asegúrese de mezclar bien la muestra.
4. El volumen adecuado de la muestra es de 2-3 gramos de materia fecal en 13-15 ml de fijador.

### PROCEDIMIENTO

#### Materiales incluidos:

Unidad de filtrado PARA-PRO fc-50, Tubos y tapones para centrífugadora de 50 ml y 15 ml, Triton X-100

#### Materiales no incluidos:

Microscopio, Suero fisiológico, Laminillas para microscopio y cubreobjetos, Centrífugadora, Varillas aplicadoras con punta de algodón, Pipetas, CONSED® (0004628) o equivalente, acetato de etilo o equivalente, PROTO-FIX (0004600) u otro fijador, Especimen fecal fijado del paciente

#### Procesamiento del espécimen

##### Especímenes preservados en PROTO-FIX

##### Procedimiento de concentración con CONSED

**NOTA:** El fijador PROTO-FIX es un fijador de vial único, claro, incoloro y ecológicamente seguro [sin metales pesados, PVA y con escaso alcohol] para preparados húmedos, tinciones permanentes, concentrados, y los métodos DFA y EIA para especímenes fecales empleados en el diagnóstico de parásitos intestinales. Se recomienda el reactivo de concentración CONSED (#0004628), dado que aumenta la recuperación de huevos, helmintos y parásitos. Además, el procedimiento de concentración PROTO-FIX/CONSED aumenta la eficiencia del laboratorio y el valor diagnóstico de la tinción permanente, ya que la tinción permanente de los especímenes que han sido fijados en PROTO-FIX puede realizarse a partir del microgránulo concentrado con CONSED.

1. Agite el espécimen/vial de fijación para mezclar bien el espécimen fijado con PROTO-FIX.
2. Agregue 4-5 gotas de Triton X-100 al espécimen/vial de fijación (se pueden añadir hasta 8 gotas si el espécimen es muy mucoso).
3. Vuelva a tapar el vial de fijación y agite bien durante 10 a 20 segundos para mezclar bien el contenido.
4. Etiqueta en forma apropiada un lado del tubo de centrifugación receptor de 50 ml. Junto con el tubo de centrifugación de 50 ml adherido a la unidad de filtrado del PARA-PRO fc-50, inserte el extremo abierto de la unidad de filtrado en el vial del espécimen/fijador y gírelo ligeramente hasta que esté bien

cerrado. Apriete el tubo de centrifugación de 50 ml sobre la unidad de filtrado PARA-PRO fc-50.

5. Invierta el tubo y filtre el espécimen a través de la unidad de filtrado PARA-PRO fc-50 dentro del tubo de centrifugación de 50 ml. Si el flujo yo se inicia inmediatamente, golpee bruscamente el tubo de centrifugación de 50 ml contra la mesada.
6. Una vez finalizada la filtración, golpee 2 ó 3 veces el tubo de centrifugación de 50 ml contra la mesada. Incline levemente la unidad de filtración y desenrosque el PARA-PRO fc-50 y el vial con el espécimen del tubo de centrifugación de 50 ml y deséchelo en un recipiente adecuado, de acuerdo con las normas de laboratorio establecidas para especímenes fecales fijados.
7. Vierta 2 ml del espécimen filtrado en un tubo de centrifugación de 15 ml (suministrado). A los 2 ml de espécimen filtrado fijado con PROTO-FIX, agregue 8 ml del reactivo CONSED y 4 ml de acetato de etilo (o un agente sustitutivo) a la muestra del tubo de centrifugación. Tape el tubo, inviértalo y agítelo vigorosamente durante 30 segundos. Durante la agitación, se acumulará presión dentro del tubo. Para eliminar esta presión, afloje la tapa con cuidado y ajústela nuevamente antes de la centrifugación.
8. Ubique los tubos tapados en la centrifugadora (con un cabezal libre) y centrifugue durante 10 minutos a 500 - 600 xg. Una vez finalizada la centrifugación, observará cuatro capas:
  - (1) Una capa superior, en su mayor parte de acetato de etilo.
  - (2) Una capa intermedia de partículas fecales grasas.
  - (3) Una capa inferior de solución.
  - (4) Una capa con microgránulos/sedimentos
9. Mientras sostiene el tubo de centrifugación en posición vertical, retire la tapa y elimine el tapón de partículas de los costados del tubo pasando en círculos una varilla aplicadora de madera. Vierta cuidadosamente las tres capas superiores en un recipiente de desechos adecuado. **NOTA:** Si el microgránulo comenzara a deshacerse, enderece rápidamente el tubo para salvarlo y con una pipeta retire con cuidado cualquier resto de reactivo de éste. Mientras el tubo está inclinado en la posición de decantación, utilice hisopos con punta de algodón para retirar las partículas y el acetato de etilo restantes de los costados del tubo. No vuelva a colocar el tubo en posición vertical hasta no haber limpiado por completo las soluciones del reactivo de los costados. Si los costados no fueran limpiados por completo con los hisopos, pequeñas gotas de lípidos podrían mezclarse con el microgránulo del sedimento lo que dificultaría el examen microscópico. Si se permitiese el retorno de un exceso de acetato de etilo al microgránulo, esto ocasionaría un preparado en fresco de mala calidad debido a la formación de burbujas de solvente.
10. Agregue 3-6 gotas (o una cantidad igual al volumen del microgránulo) de PROTO-FIX. Con una varilla aplicadora, mezcle totalmente el PROTO-FIX con el microgránulo. **NOTA:** En este punto es posible preparar los frotis y laminillas para las tinciones permanentes y especiales. Consulte la sección "Preparación de laminillas para frotis" y "Procedimientos varios" en las Instrucciones de uso del PROTO-FIX.
11. Para la preparación en fresco, deje caer 1 gota del microgránulo preparado en la etapa 10 sobre una laminilla de vidrio limpia. Agregue una gota de solución de yodo (solución de Lugol o solución de Dobell y O'Connor) al espécimen, mezcle con suavidad y cubra con el cubreobjetos. Examine la laminilla al microscopio en busca de huevos, helmintos y parásitos. Consulte las referencias adecuadas para la identificación de los huevos y parásitos.

#### Procesamiento del espécimen Especímenes no preservados

##### Procedimiento de concentración con formalina/acetato de etilo

(Para la obtención de resultados óptimos se recomienda que los especímenes sean preservados en el momento de recolección. Los especímenes no preservados cuyo transporte se haya demorado pueden tener un valor diagnóstico limitado).

1. Transfiera 3-5 gramos de heces sin preservar a uno de los conservantes de 13 - 15 ml listados en el punto 1 de la recolección

de especímenes. Mezcle por completo las heces con el conservante y disgregue los grumos o masas de heces. La mezcla de heces/conservante debe dejarse reposar por un mínimo de 30 minutos para asegurar una fijación adecuada. A continuación, siga el procedimiento de uso específico para cada fijador.

#### Procesamiento del espécimen

##### Especímenes preservados en PROTO-FIX

##### Procedimiento de concentración en formalina/acetato de etilo

**NOTA:** No se recomienda el procedimiento de concentración por formalina/acetato de etilo con especímenes fijados en PROTO-FIX. El procedimiento con formalina/acetato de etilo reducirá la cantidad y variedad de parásitos en la muestra concentrada e impedirá la recuperación de los trofozoítos presentes en la muestra. La utilización del procedimiento de concentración PROTO-FIX/CONSED (descrito anteriormente) aumentará significativamente la recuperación de organismos en la muestra concentrada, por lo que se recomienda especialmente.

1. Agite el espécimen/vial de fijación para mezclar bien el espécimen fijado con PROTO-FIX.
2. Agregue 4-5 gotas de Triton X-100 al espécimen/vial de fijación. (Se pueden agregar hasta 8 gotas si el espécimen es muy mucoso).
3. Vuelva a tapar el vial de fijación y agite bien durante 10 a 20 segundos para mezclar bien el contenido.
4. Etiquete en forma apropiada un lado del tubo de centrifugación receptor de 50 ml. Junto con el tubo de centrifugación de 50 ml adherido a la unidad de filtrado del PARA-PRO fc-50, inserte el extremo abierto de la unidad de filtrado en el vial del espécimen/fijador y gírelo ligeramente hasta que esté bien cerrado. Apriete el tubo de centrifugación de 50 ml sobre la unidad de filtrado PARA-PRO fc-50.
5. Invierta el tubo y filtre el espécimen a través de la unidad de filtrado PARA-PRO fc-50 dentro del tubo de centrifugación de 50 ml. Si el flujo yo se inicia inmediatamente, golpee bruscamente el tubo de centrifugación de 50 ml contra la mesada.
6. Una vez finalizada la filtración, golpee 2 ó 3 veces el tubo de centrifugación de 50 ml contra la mesada. Incline levemente la unidad de filtración y desenrosque el PARA-PRO fc-50 y el vial con el espécimen del tubo de centrifugación de 50 ml y deséchelo en un recipiente adecuado, de acuerdo con las normas de laboratorio establecidas para especímenes fecales fijados.
7. Vierta 3 ml del espécimen filtrado en un tubo de centrifugación de 15 ml (suministrado). A los 3 ml de espécimen filtrado fijado con PROTO-FIX, agregue 7 ml de formalina diluida al 10% y mezcle el espécimen.
8. Añada 4 ml de acetato de etilo (o un agente sustituto) a la muestra del tubo de centrifugación. Tape el tubo, inviértalo y agítelo vigorosamente durante 30 segundos. Durante la agitación, se acumulará presión dentro del tubo. Para eliminar esta presión, afloje la tapa con cuidado y ajústela nuevamente antes de la centrifugación.
9. Ubique los tubos tapados en la centrifugadora (con un cabezal libre) y centrifugue durante 10 minutos a 500 - 600 xg. Una vez finalizada la centrifugación, observará cuatro capas:
  - (1) Una capa superior, en su mayor parte de acetato de etilo.
  - (2) Una capa intermedia de partículas fecales grasas.
  - (3) Una capa inferior de solución.
  - (4) Una capa con microgránulos/sedimentos
10. Mientras sostiene el tubo de centrifugación en posición vertical, retire la tapa y elimine el tapón de partículas de los costados del tubo pasando en círculos una varilla aplicadora de madera. Vierta cuidadosamente las tres capas superiores en un recipiente de desechos adecuado. **NOTA:** Si el microgránulo comenzara a deshacerse, enderece rápidamente el tubo para salvarlo y con una pipeta retire con cuidado cualquier resto de reactivo de éste. Mientras el tubo está inclinado en la posición de decantación, utilice hisopos con punta de algodón para retirar las partículas y el acetato de etilo restantes de los costados del tubo. No vuelva a

colocar el tubo en posición vertical hasta no haber limpiado por completo las soluciones del reactivo de los costados. Si los costados no fueran limpiados por completo con los hisopos, pequeñas gotas de lípidos podrían mezclarse con el microgránulo del sedimento lo que dificultaría el examen microscópico. Si se permitiese el retorno de un exceso de acetato de etilo al microgránulo, esto ocasionaría un preparado en fresco de mala calidad debido a la formación de burbujas de solvente.

11. Agregue unas gotas de PROTO-FIX al microgránulo y mézclelos bien.
12. Para la preparación en fresco, deje caer 1 gota del sedimento preparado en la etapa 11 sobre una laminilla de vidrio limpia. Agregue una gota de solución de yodo (solución de Lugol o solución de Dobell y O'Connor) al espécimen, mezcle con suavidad y cubra con el cubreobjetos. Examine la laminilla al microscopio en busca de huevos, helmintos y parásitos. Consulte las referencias adecuadas para la identificación de los huevos y parásitos.

**Procesamiento del espécimen**

**Especímenes preservados en formalina**

**Procedimiento de concentración en formalina/acetato de etilo**

1. Mezcle bien el espécimen con formalina.
2. Agregue 8-10 gotas de Triton X-100 al espécimen en el vial con la formalina.
3. Tápele nuevamente. Agite durante 20 a 30 segundos el espécimen fijado con el surfactante para mezclar bien.
4. Etiquete en forma apropiada un lado del tubo de centrifugación receptor de 50 ml. Junto con el tubo de centrifugación de 50 ml adherido a la unidad de filtrado del PARA-PRO fc-50, inserte el extremo abierto de la unidad de filtrado en el vial del espécimen/fijador y gírelo ligeramente hasta que esté bien cerrado. Apriete el tubo de centrifugación de 50 ml sobre la unidad de filtrado PARA-PRO fc-50.
5. Invierta el tubo y filtre el espécimen a través de la unidad de filtrado PARA-PRO fc-50 dentro del tubo de centrifugación de 50 ml. Si el flujo yo se inicia inmediatamente, golpee bruscamente el tubo de centrifugación de 50 ml contra la mesada.
6. Una vez finalizada la filtración, golpee 2 ó 3 veces el tubo de centrifugación de 50 ml contra la mesada. Incline levemente la unidad de filtración y desenrosque el PARA-PRO fc-50 y el vial con el espécimen del tubo de centrifugación de 50 ml y deséchelo en un recipiente adecuado, de acuerdo con las normas de laboratorio establecidas para especímenes fecales fijados.
7. Agregue 10 ml de suero fisiológico salino a la muestra filtrada (en el tubo de centrifugación de 50 ml) y centrifugue durante 10 minutos a 500 - 600 xg.
8. Decante el sobrenadante y conserve el sedimento.
9. Resuspenda el sedimento con 10 ml de formalina diluida al 10% y mezcle bien el espécimen.
10. Agregue 5 ml de acetato de etilo o un sustituto. Tape el tubo, inviértalo y agítelo vigorosamente durante 30 segundos. Saque la tapa con cuidado, con el tubo en dirección contraria al cuerpo, ya que la operación de agitado puede aumentar la presión dentro del tubo.
11. Centrifugue a 500-600 xg durante 10 minutos. Una vez finalizada la centrifugación, se observarán cuatro capas (de arriba abajo):
  - (1) acetato de etilo
  - (2) un "tapón" de partículas fecales y grasa
  - (3) formalina
  - (4) la capa del sedimento
12. Mientras sostiene el tubo de centrifugación en posición vertical, elimine el tapón de partículas de los costados del tubo pasando una varilla aplicadora de madera en círculos. Vierta cuidadosamente las tres capas superiores en un recipiente de desechos adecuado. Mientras el tubo está inclinado en la posición de decantación, utilice un hisopo con punta de algodón para retirar las partículas de los costados del tubo. No vuelva a colocar el tubo en posición vertical hasta no haber limpiado por completo los costados. Si los costados no fueran limpiados por completo con los

hisopos, pequeñas gotas de lípidos podrían mezclarse con el sedimento, lo que dificultaría el examen.

13. Prepare una preparación en fresco sobre una laminilla de vidrio limpia. El examen debe llevarse a cabo dentro de los 30 minutos siguientes. Si los preparados se van a hacer más tarde, se puede agregar una pequeña cantidad de formalina diluida al 10% al sedimento y cerrar el tubo. Consulte las referencias adecuadas para el examen correcto del sedimento y la identificación de los parásitos.

**Especímenes preservados en SAF**

Consulte las Instrucciones de uso del SAF para los métodos de procesamiento indicados.

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECÍFICAS**

Parasite	n	10% Formalin		SAF		PROTO-FIX		Recovery Improvement with PARA-PRO fc50	
		PARA-PRO fc50	Para-Pak <sup>®</sup> Macro-CON <sup>®</sup>	PARA-PRO fc50	Para-Pak <sup>®</sup> Macro-CON <sup>®</sup>	PARA-PRO fc50	Para-Pak <sup>®</sup> Macro-CON <sup>®</sup>		
<i>A. lumbricoides</i>	15	3.7	1.5	1.5	0.9	5.5	2.7	+	100% p < 0.0001
<i>B. hominis</i>	3	27.4	18.8	15.8	12.6	36.5	22.9	+	59% p < 0.0001
<i>C. mesnili</i>	1	7	3	4	0	11	5	n.d.	n.d.
<i>D. fragilis</i>	3	0	0	0	0	4.6	2.3	+	n.d. n.d.
<i>E. coli</i>	24	13.5	8.8	1.4	4.7	21.5	13	+	66% p < 0.0001
<i>E. nana</i>	11	8.6	5	3.5	1.8	12.3	0.4	+	67% p < 0.0001
<i>E. histolytica</i>	7	10.3	7.1	6.7	4.3	14.9	10	+	49% p < 0.0004
<i>G. lamblia</i>	7	19.9	15.4	12.9	9.4	26.8	19.1	+	40% p < 0.0012
Hookworm	29	2.9	1.3	1.1	0.5	3.9	1.6	+	144% p < 0.0001
<i>I. butschlii</i>	5	10.4	7.2	6	3.8	17.2	10.4	+	65% p < 0.0008
<i>S. stercoralis</i>	7	0	0	0	0	1.9	0.11	n.d.	n.d.
<i>T. trichiura</i>	6	3.5	1.8	1.6	1	5	2.3	+	116% p < 0.0030

Average parasites recovered per 50 microliter specimen  
n = number of positive samples

La sensibilidad y especificidad de cualquier análisis de huevos y parásitos está determinada por la técnica y la experiencia del usuario del producto; sin embargo, en un estudio clínico se demostró que el PARA-PRO fc-50 mejora la sensibilidad sin afectar la especificidad. En un examen de 51 especímenes fecales obtenidos durante un estudio de la Washington State University, se comparó la eficiencia del PARA-PRO fc-50 con la del equipo más similar ya verificado, el Para-Pak<sup>®</sup> Macro-CON<sup>®</sup> (Meridian Bioscience). Cada espécimen fue dividido en tres grupos y cada uno fue preservado con un fijador diferente: formalina al 10%, SAF y PROTO-FIX. Posteriormente, cada espécimen fue subdividido y concentrado con cada dispositivo, después de lo cual se cuantificaron los huevos y parásitos mediante examen microscópico de 50 microlitros del concentrado. El resultado de este estudio (ver el cuadro) muestra que el PARA-PRO fc-50 puede mejorar el resultado de un amplio rango de parásitos intestinales respecto a productos similares. Independientemente del fijador empleado, con el PARA-PRO fc-50 se observó una mejora drástica y significativa de la recuperación de parásitos y, en varias muestras, esto fue un factor limitante para la observación de bajas poblaciones de parásitos. Por ejemplo, en seis de siete muestras positivas, sólo se observó *S. stercoralis* con el uso combinado de PARA-PRO fc-50 y PROTO-FIX.

PARA-PRO fc-50 proporciona resultados comparables a los del procedimiento de concentración de formalina-acetato de etilo descrito por Ritchie y modificado por Young, et al.

**NOTAS:**

1. Si la muestra fecal fresca es acuosa, primero se debe centrifugar el espécimen durante 3-5 minutos a 450-500 xg. Decante con cuidado el sobrenadante y utilice el sedimento para los procedimientos de concentración.

2. La unidad PARA-PRO fc-50 tiene un filtro moldeado de precisión que permite el pasaje de los huevos de helmintos, larvas y quistes de protozoarios y trofozoítos, pero retiene las partículas de mayor tamaño en el filtro. La mayor parte de los residuos fecales macroscópicos serán desechados con el embudo/unidad de filtrado. En el caso de muestras fecales densas, la velocidad de flujo será considerablemente menor. Sin embargo, no se debe forzar la muestra a través del elemento de filtración por ningún método. Esto podría dañar a la unidad de filtración, lo que requeriría un nuevo análisis de la muestra. Además, recortar o forzar la muestra a través del embudo/unidad de filtrado podría forzar al material a través del dispositivo, lo que provocaría partículas de tamaño diferente al estándar en el sedimento final. Este material de mayor tamaño dificultaría el examen, entorpeciendo la colocación del cubreobjetos.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Burrows, R.B. 1965. "Microscopic Diagnosis of the Parasites of Man." Yale University Press, New Haven.
2. García, 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. García, 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.

#### **CONTACTO**

Alpha-Tec ofrece una línea completa de reactivos, tinciones, laminillas de control de calidad, sistemas de recolección de huevos y parásitos y sistemas de concentración para parasitología. Para asistencia técnica o atención al cliente, envíe un correo electrónico a [Sales@AlphaTecSystems.com](mailto:Sales@AlphaTecSystems.com) o llame al [+1] 800 221.6058 desde los Estados Unidos, o al [+1] 360.260.2779, de lunes a viernes, de 8 de la mañana a 4 de la tarde, hora del Pacífico.

#### **GARANTÍA**

Alpha-Tec Systems, Inc. garantiza que este producto se desempeñará según la descripción de la etiqueta y la literatura incluida. Alpha-Tec Systems, Inc. renuncia a cualquier garantía implícita de comerciabilidad o adecuación para cualquier otro fin y, en ninguna circunstancia Alpha-Tec Systems, Inc. será responsable de cualquier daño que pudiera surgir como consecuencia de la garantía expresa antes mencionada.

#### **MARCAS REGISTRADAS:**

PARA-PRO®, PROTO-FIX®, y CONSED™ son marcas registradas de Alpha-Tec Systems, Inc., 1311 SE Cardinal Court, Suite 170, Vancouver, WA 98683 USA.

Indicazioni per l'uso di:  
PARA-PRO® fc-50

#### USO PREVISTO

PARA-PRO® fc-50 di Alpha-Tec Systems è un sistema per la concentrazione di uova di elminti, larve, protozoi, oocisti di coccidi e spore di microsporidi a partire da campioni fecali conservati (fissati). PARA-PRO fc-50 è stato progettato per essere utilizzato con PROTO-FIX®, formalina 10% o SAF. Se usato con le fiale di raccolta contenenti fissativo, PARA-PRO fc-50 forma un sistema di filtrazione chiuso per il passaggio di pre-filtrazione della procedura di concentrazione. PARA-PRO fc-50 è stato progettato per filtrare l'intero campione prima dei passaggi col reagente di concentrazione.

#### SOMMARIO

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 PROTO-FIX, formalina tamponata, SAF, o sui campioni freschi in cui è stato aggiunto il fissativo consigliato durante la lavorazione.

#### PRINCIPI

PARA-PRO fc-50 utilizza metodologie esistenti e componenti standardizzati per la preparazione del campione da esaminare successivamente a microscopio.

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 PARA-PRO fc-50 ha una precisa trama di filtrazione che permette il passaggio di uova di elminti, larve 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. 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.

#### STABILITA' E CONSERVAZIONE

Le unità di filtrazione PARA-PRO fc-50 sono stabili fino alla data di scadenza se conservate alla temperatura richiesta. Conservare a temperatura ambiente (15-30°C). Evitare temperature troppo alte e l'esposizione alla luce del sole.

#### CONTROLLO QUALITA' UTENTE

Il tecnico di laboratorio che effettua queste procedure dovrebbe controllare l'integrità del dispositivo di filtrazione PARA-PRO fc-50, ad

esempio il dispositivo non deve essere rotto, il cono di filtrazione deve essere costituito da una struttura a pori aperti (nessun blocco dei fori di filtrazione) e il canale di scambio dell'aria in cima al cono di filtrazione deve essere libero da residui di plastica. Non utilizzare nessun dispositivo che mostri irregolarità.

#### RACCOLTA & PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

1. Con PARA-PRO fc-50 possono essere processati campioni conservati in PROTO-FIX, formalina tamponata, SAF, 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 Forniti:

Unità di filtrazione PARA-PRO fc-50, provette da centrifuga & tappi, 15 ml, 50 ml, Triton X-100

##### Materiali Non Forniti:

Microscopio, Soluzione fisiologica, vetrini e coprioggetti per microscopio, centrifuga, applicatori a stick con estremità di cotone, pipette, CONSED® o equivalente, etilacetato o equivalente, PROTO-FIX (o altri fissativi) campione fecale fissato.

#### Lavorazione del campione-

##### Campioni conservati con PROTO-FIX

##### Procedura di concentrazione con CONSED

**NOTA:** Il fissativo PROTO-FIX è incolore, nitido e sicuro per l'ambiente [assenza di metalli pesanti e PVA, basso contenuto di alcol]; costituisce un sistema di fissazione a fiala unica di campioni fecali, usato nella diagnosi di parassiti intestinali, per la preparazione di vetrini, colorazioni permanenti, concentrazioni, e metodologie DFA e EIA. E' consigliato l'uso del reagente di concentrazione CONSED (#0004628) in quanto aumenta il recupero di uova, elminti e parassiti. Inoltre, la procedura di concentrazione PROTO-FIX / CONSED aumenta l'efficienza del laboratorio e il valore diagnostico della colorazione permanente, in quanto dal pellet concentrato con CONSED può essere allestito il preparato permanente del campione fissato in PROTO-FIX.

1. Miscelare accuratamente il campione fissato con PROTO-FIX agitando il campione nella fiala con il fissativo.
2. Aggiungere 4-5 gocce di Triton X-100 al campione nella fiala con fissativo (se il campione è fortemente mucoso possono essere aggiunte fino a 8 gocce).
3. Richiudere la fiala con fissativo e miscelare accuratamente il contenuto agitando per 10-20 secondi.
4. Marcare opportunamente la provetta da centrifuga ricevente da 50 ml su un lato. Inserire l'estremità aperta dell'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50 (collegata alla provetta da centrifuga da 50 ml), alla fiala con fissativo e campione; ruotare delicatamente fino a stringere bene. Fissare anche la provetta da centrifuga da 50 ml sull'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50.
5. Capovolgere la provetta e filtrare il campione attraverso l'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50 nella provetta da centrifuga da 50 ml. Se il flusso non comincia immediatamente, urtare la provetta da centrifuga da 50 ml contro il piano di lavoro.
6. A filtrazione ultimata, sbattere delicatamente la provetta da centrifuga da 50 ml sul piano di lavoro 2-3 volte. Inclinare leggermente l'unità di filtrazione, svitare la fiala che conteneva il campione e il PARA-PRO fc-50 ed eliminarli in un contenitore appropriato per lo smaltimento in accordo con le procedure di laboratorio stabilite per i campioni fecali fissati.



7. Trasferire 2 ml del campione filtrato in una provetta da centrifuga da 15 ml (fornita). Aggiungere ai 2 ml di campione fissato in PROTO-FIX e filtrato nella provetta da centrifuga, 8 ml del reagente CONSED e 4 ml di etilacetato (o un reagente analogo). Chiudere la provetta, invertire e agitare vigorosamente per 30 secondi. Durante l'agitazione aumenterà la pressione all'interno della provetta. Per eliminare questa pressione, allentare con delicatezza il tappo; riavvitare poi il tappo prima di centrifugare.
8. Posizionare la provetta ben chiusa nella centrifuga (con rotore a oscillazione libera) e centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg. A seguito della centrifugazione si svilupperanno 4 strati:
  - (1) Uno strato superiore formato per lo più da etilacetato
  - (2) Un secondo strato di residui fecali
  - (3) Uno strato inferiore formato dalla soluzione
  - (4) Un pellet di sedimenti
9. Tenendo la provetta in posizione verticale, togliere il tappo, 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. **NOTA:** se il pellet comincia a rompersi, riportare velocemente la provetta in posizione verticale per non perdere il pellet e aspirare con attenzione ogni reagente residuo al di fuori del pellet con una pipetta. Mentre la provetta è ancora inclinata, usare un tampone con l'estremità di cotone per rimuovere i residui rimanenti e l'etilacetato dalle pareti della provetta. Non ruotare la provetta in posizione verticale fino a che le pareti della provetta non sono state completamente pulite dalle soluzioni dei reagenti. Se le pareti non vengono pulite a fondo con il tampone, gocce lipidiche potrebbero mescolarsi con il sedimento rendendo più difficile l'esame microscopico. Se l'eccesso di etilacetato dovesse tornare a contatto con il pellet di sedimenti, la formazione di bolle di solvente potrebbe risultare in un preparato per il vetrino molto scarso.
10. Aggiungere 3-6 gocce (o un quantitativo pari al volume del pellet) di PROTO-FIX. Con un bastoncino applicatore mescolare accuratamente il pellet con il PROTO-FIX. **NOTA:** I vetrini per la colorazione permanente e i vetrini per le colorazioni speciali possono essere preparati in questo momento della procedura. Riferirsi ai paragrafi intitolati: "Preparazione dei vetrini" e "Procedure varie" nelle istruzioni per l'uso di PROTO-FIX.
11. Preparare la sospensione ponendo una goccia del sedimento ottenuto dal passaggio #10 su un vetrino pulito. Aggiungere al campione una goccia di soluzione di iodio (Lugol's Iodine o Dobell & O'Connor's Iodine), miscelare con cautela e applicare il coprioggetto. Esaminare il vetrino al microscopio per uova, elminti e parassiti. Consultare i riferimenti appropriati per l'identificazione di uova e parassiti.

#### Processamento dei campioni-

##### Campioni non conservati

##### Procedura con formalina / etilacetato

(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 non conservate in 13-15 ml di uno dei conservanti elencati nel paragrafo Preparazione del campione #1. 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 dei campioni-

##### Campioni conservati in PROTO-FIX

##### Procedura di concentrazione con formalina / etilacetato

**NOTA:** La procedura di concentrazione formalina/etilacetato non è consigliata per l'utilizzo di campioni fissati in PROTO-FIX. L'utilizzo della procedura formalina / etilacetato ridurrà il numero e la varietà dei parassiti nel campione concentrato e impedirà il recupero di eventuali trofozoiti se presenti. Si raccomanda vivamente l'utilizzo della procedura di concentrazione PROTO-FIX / CONSED (descritta sopra) che

migliorerà in modo significativo il recupero degli organismi nel campione concentrato.

1. Miscelare accuratamente il campione fissato con PROTO-FIX agitando il campione nella fiala con il fissativo.
2. Aggiungere 4-5 gocce di Triton X-100 al campione nella fiala con fissativo (se il campione è fortemente mucoso possono essere aggiunte fino a 8 gocce).
3. Richiudere la fiala con fissativo e miscelare accuratamente il contenuto agitando per 10-20 secondi.
4. Marcare opportunamente la provetta da centrifuga ricevente da 50 ml su un lato. Inserire l'estremità aperta dell'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50 (collegata alla provetta da centrifuga da 50 ml), alla fiala con fissativo e campione; ruotare delicatamente fino a stringere bene. Fissare anche la provetta da centrifuga da 50 ml sull'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50.
5. Capovolgere la provetta e filtrare il campione attraverso l'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50 nella provetta da centrifuga da 50 ml. Se il flusso non comincia immediatamente, urtare la provetta da centrifuga da 50 ml contro il piano di lavoro.
6. A filtrazione ultimata, sbattere delicatamente la provetta da centrifuga da 50 ml sul piano di lavoro 2-3 volte. Inclinare leggermente l'unità di filtrazione, svitare la fiala che conteneva il campione e il PARA-PRO fc-50 ed eliminarli in un contenitore appropriato per lo smaltimento in accordo con le procedure di laboratorio stabilite per i campioni fecali fissati.
7. Trasferire 3 ml del campione filtrato in una provetta da centrifuga da 15 ml (fornita). Aggiungere ai 3 ml di campione fissato in PROTO-FIX, 7 ml di formalina tamponata al 10% e miscelare il campione.
8. Aggiungere 4 ml di etilacetato (o un reagente analogo) al campione nella provetta da centrifuga. Chiudere la provetta, invertire e agitare vigorosamente per 30 secondi. Durante l'agitazione aumenterà la pressione all'interno della provetta. Per eliminare questa pressione, allentare con delicatezza il tappo; riavvitare poi il tappo prima di centrifugare.
9. Posizionare la provetta ben chiusa nella centrifuga (con rotore a oscillazione libera) e centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg. A seguito della centrifugazione si svilupperanno 4 strati:
  - (1) Uno strato superiore formato per lo più da etilacetato
  - (2) Un secondo strato di residui fecali
  - (3) Uno strato inferiore formato dalla soluzione
  - (4) Un pellet di sedimenti
10. Tenendo la provetta in posizione verticale, togliere il tappo, 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. **NOTA:** se il pellet comincia a rompersi, riportare velocemente la provetta in posizione verticale per non perdere il pellet e aspirare con attenzione ogni reagente residuo al di fuori del pellet con una pipetta. Mentre la provetta è ancora inclinata, usare un tampone con l'estremità di cotone per rimuovere i residui rimanenti e l'etilacetato dalle pareti della provetta. Non ruotare la provetta in posizione verticale fino a che le pareti della provetta non sono state completamente pulite dalle soluzioni dei reagenti. Se le pareti non vengono pulite a fondo con il tampone, gocce lipidiche potrebbero mescolarsi con il sedimento rendendo più difficile l'esame microscopico. Se l'eccesso di etilacetato dovesse tornare a contatto con il pellet di sedimenti, la formazione di bolle di solvente potrebbe risultare in un preparato per il vetrino molto scarso.
11. Aggiungere poche gocce di PROTO-FIX al pellet e miscelare bene.
12. Preparare la sospensione ponendo una goccia del sedimento ottenuto dal passaggio #11 su un vetrino pulito. Aggiungere al campione una goccia di soluzione di iodio (Lugol's Iodine o Dobell & O'Connor's Iodine), miscelare con cautela e applicare il coprioggetto. Esaminare il vetrino al microscopio per uova, elminti e parassiti. Consultare i riferimenti appropriati per l'identificazione di uova e parassiti.

**Processamento dei campioni-  
Campioni conservati in formalina**

**Procedura di concentrazione con formalina / etilacetato**

- Miscelare accuratamente il campione nella formalina.
- Aggiungere 8-10 gocce di Triton X-100 al campione nella fiala in formalina.
- Richiedere la fiala con fissativo. Miscelare accuratamente il campione fissato, con il surfattante agitando per 10-20 secondi.
- Marcare opportunamente la provetta da centrifuga ricevente da 50 ml su un lato. Inserire l'estremità aperta dell'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50 (collegata alla provetta da centrifuga da 50 ml), alla fiala con fissativo e campione; ruotare delicatamente fino a stringere bene. Fissare anche la provetta da centrifuga da 50 ml sull'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50.
- Capovolgere la provetta e filtrare il campione attraverso l'unità di Capovolgere la provetta e filtrare il campione attraverso l'unità di filtrazione PARA-PRO fc-50 nella provetta da centrifuga da 50 ml. Se il flusso non comincia immediatamente, urtare la provetta da centrifuga da 50 ml contro il piano di lavoro.
- A filtrazione ultimata, sbattere delicatamente la provetta da centrifuga da 50 ml sul piano di lavoro 2-3 volte. Inclinare leggermente l'unità di filtrazione, svitare la fiala che conteneva il campione e il PARA-PRO fc-50 ed eliminarli in un contenitore appropriato per lo smaltimento in accordo con le procedure di laboratorio stabilite per i campioni fecali fissati.
- Aggiungere 10 ml di soluzione fisiologica al campione filtrato (nella provetta da 15 ml) e centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg.
- Versare il surnatante mantenendo il sedimento.
- Risospingere il sedimento con 10 ml di formalina tamponata al 10% e miscelare accuratamente il campione.
- Aggiungere 5 ml di etilacetato o un reagente analogo. 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.
- Centrifugare per 10 minuti a 500-600 xg. Dopo la centrifugazione dovrebbero formarsi quattro (4) strati (dall'alto verso il basso):
  - etilacetato
  - residui fecali e grasso
  - formalina
  - strato di sedimenti
- 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. Se le pareti non vengono pulite a fondo con il tampone, gocce lipidiche potrebbero mescolarsi con il sedimento rendendo più difficile l'esame microscopico.
- 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**

Per le procedure di lavorazione consigliate fare riferimento alle istruzioni per l'uso di SAF.

**CARATTERISTICHE SPECIFICHE DI PERFORMANCE**

Parasite	n	10% Formalin		SAF		PROTO-FIX		Recovery Improvement with PARA-PRO fc50	
		PARA-PRO fc50	Para-Pak <sup>®</sup> Macro-CON <sup>®</sup>	PARA-PRO fc50	Para-Pak <sup>®</sup> Macro-CON <sup>®</sup>	PARA-PRO fc50	Para-Pak <sup>®</sup> Macro-CON <sup>®</sup>		
<i>A. lumbricoides</i>	15	3.7	1.5	1.5	0.9	5.5	2.7	+ 100%	p < 0.0001
<i>B. hominis</i>	3	27.4	18.8	15.8	8	12.6	22.9	+ 59%	p < 0.0001
<i>C. mesnili</i>	1	7	3	3	4	0	1.1	n.d.	n.d.
<i>D. fragilis</i>	3	0	0	0	0	4.6	2.3	n.d.	n.d.
<i>E. coli</i>	24	13.5	8.8	1.4	4.7	21.5	13	+ 66%	p < 0.0001
<i>E. nana</i>	11	8.6	5	3.5	1.8	12.3	0.4	+ 67%	p < 0.0001
<i>E. histolytica</i>	7	10.3	7.1	6.7	4.3	14.9	10	+ 49%	p < 0.0004
<i>G. lamblia</i>	7	19.9	15.4	9	9.4	26.8	19.1	+ 40%	p < 0.0012
<i>Hookworm</i>	29	2.9	1.3	1.1	0.5	3.9	1.6	+ 144%	p < 0.0001
<i>I. buschlii</i>	5	10.4	7.2	6	3.8	17.2	10.4	+ 65%	p < 0.0008
<i>S. stercoralis</i>	7	0	0	0	0	1.9	0.11	n.d.	n.d.
<i>T. trichiura</i>	6	3.5	1.8	1.6	1	5	2.3	+ 116%	p < 0.0030

Average parasites recovered per 50 microliter specimen  
n = number of positive samples

Media dei parassiti recuperati per 50 microlitri di campione  
n = numero di campioni positivi

La specificità e la sensibilità delle analisi O&P é determinata dalla tecnica e dall'esperienza dell'utilizzatore; tuttavia è stato mostrato in uno studio clinico che PARA-PRO fc-50 migliora la sensibilità senza compromettere la specificità. Nell'esame di 51 campioni fecali analizzati durante uno studio dell'Università Statale di Washington, l'efficienza di PARA-PRO fc-50 è stata comparata con il dispositivo già in uso più simile: Para-Pak<sup>®</sup> Macro-CON<sup>®</sup> (Meridian Bioscience). Ogni campione è stato diviso in tre porzioni, ciascuna conservata in diversi fissativi – formalina 10%, SAF e PROTO-FIX. Ogni campione fissato è stato ulteriormente diviso e concentrato con i due dispositivi, in seguito uova e parassiti sono stati quantificati con l'esame microscopico di 50 microlitri di concentrato. I risultati di questo studio (vedi tabella) mostrano che PARA-PRO fc-50 è in grado di migliorare il recupero di una vasta gamma di parassiti intestinali rispetto a quelli recuperati con un dispositivo simile. Indipendentemente dal fissativo utilizzato, è stato osservato un miglioramento significativo nel recupero con PARA-PRO fc-50 e in diversi campioni questo è stato un fattore limitante nei parassiti a popolazione limitata. Ad esempio, in sei di sette campioni positivi, *S. stercoralis* è stato osservato solo con la combinazione di PARA-PRO fc-50 e PROTO-FIX.

PARA-PRO fc-50 fornisce risultati comparabili con la procedura di concentrazione formalina-etilacetato descritta.

**NOTA:**

- Se il campione fecale fresco é 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.
- PARA-PRO fc-50 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 copri oggetto.

## BIBLIOGRAFIA

- Burrows, R.B. 1965. "Microscopic Diagnosis of the Parasites of Man." Yale University Press, New Haven.
- Garcia, L.S., M. Voge. 1990. Diagnostic Clinical Parasitology. Am J. Med. Technol. 46:459-467.
- 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.
- 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.
- Price, D.L. 1994. Procedure Manual for the Diagnosis of Intestinal Parasites. CRC Press.
- Ritchie, L.S. 1948. An Ether Sedimentation Technique for Routine Stool Examinations. Bull. U.S. Army Med. Dept. 8:326.
- 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.
- 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

Alpha-Tec Systems, 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](mailto: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](mailto:info@arnika.net)

## GARANZIA

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

## MARCHI:

PARA-PRO<sup>®</sup>, PROTO-FIX<sup>®</sup>, e CONSED<sup>®</sup> sono marchi di Alpha-Tec Systems, Inc., 1311 SE Cardinal Court, Suite 170, Vancouver, WA 98683 USA.

## PRODUCT CODES:

0004060 PARA-PRO fc50, 50 ml /15 ml tubes and caps



Manufactured by Alpha-Tec Systems, 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 / Gemachtigde 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 / iaktag försiktighet / Previdno / Atenção



Temperature limit / Conserver aux températures indiquées / Almacene entre las temperaturas indicadas / Conservare a temperature 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 / Contenuto sufficiente 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