

Para-Pak® CON-Trate® Stool Concentration Kit System

REF 960200

IVD

Rx Only

INTENDED USE

The Meridian Para-Pak CON-Trate System is a complete system for concentrating and recovering helminth eggs, larvae and protozoan cysts from feces. Kit systems are designed for easy use by individuals not trained in microbiological procedures and afford an excellent means of minimizing the adverse effects of delay in specimen transportation.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Correct diagnosis of intestinal parasitic infection depends on proper collection, transport, detection, and identification of parasites in fecal specimens.^{1, 2, 4, 5, 7, 9}

The detection and identification of small numbers of helminth eggs and protozoan cysts from large volumes of feces is of critical importance to the diagnosis of intestinal parasitic infection.

Historically, fecal specimens fixed in 10% formalin have been used in concentration procedures for detection and identification of parasitic elements.^{1, 2, 6, 9, 10, 12, 13} Investigators have reported on the use of other fixatives such as SAF.¹² The Meridian Para-Pak CON-Trate system combines proven methodology with recent advances that optimize detection and identification, and minimizes specimen preparation in a safe, standardized, easily performed manner.⁸

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The Meridian Para-Pak CON-Trate System uses efficient, cost effective methods for recovering protozoan cysts, helminth eggs (including operculated eggs) and larvae, from preserved fecal specimens.

1. The addition of CON-Trate Reagent A and thorough mixing of the preserved specimen enhances the breakdown of fecal aggregates and mucus, thus freeing parasites.⁸
2. Filtering the stool-Reagent A suspension through the unique CON-Trate filtering device removes macroscopic fecal aggregates and debris.⁸
3. Shaking the stool-Reagent A-Reagent B Suspension forms a colloidal mixture. Centrifugation concentrates parasitic elements in a sediment layer. Most of the fecal debris is discarded with the supernatant fluid.
4. Substitution of CON-Trate Reagent B for ethyl ether in the system results in equivalent or better recovery of parasites.^{6, 11, 13} CON-Trate Reagent B is less flammable than ethyl ether. No distortion or destruction of parasitic elements has been reported.^{6, 11, 13}

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. CON-Trate tubes (item #3810A)
2. CON-Trate Reagent A (item #9601-01)
3. Ethyl Acetate, Reagent B (item #4160-02)
4. Spin-Con Funnel and filter (item #3814A)
5. Caps for CON-Trate (item #3813)

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Cotton-tipped applicator sticks
2. Microscope slides and coverslips
3. Physiological saline, 10% buffered formalin
4. Centrifuge
5. Microscope
6. Pipettes

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. CAUTION: CON-Trate Reagent B is flammable. Perform all procedures in a well-ventilated area. Avoid open flames and ignition devices. Avoid contact with the skin or eyes. Avoid breathing fumes.
3. Observe good technique in handling and disposal of all biohazardous clinical and laboratory specimens and material.
4. Concentration of fecal specimens for parasitic examination is only an integral part of the overall scheme for identification of intestinal parasites. Additional tests and procedures may be found in appropriate references.
5. This product must not be used if:
 - a. The expiration date on the label has passed.
 - b. Proper storage conditions have not been observed.
6. IMPORTANT: See SDS for additional safety and hazard information.

Any serious incident that has occurred in relation to the device should be reported to Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 USA or Technical Support Center 800.343.3858 and competent authority of the EU Member State in which the clinician and/or patient is established.

HAZARD AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

 Ethyl Acetate / Reagent B	Signal word Danger Contains Ethylacetate Hazard statements H225 - Highly flammable liquid and vapor H315 - Causes skin irritation H319 - Causes serious eye irritation H336 - May cause drowsiness or dizziness EUH066 - Repeated exposure may cause skin dryness or cracking Precautionary Statements - EU (§28, 1272/2008) P321 - Specific treatment (see section 4 on this label). P264 - Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling. P280 - Wear eye protection/ face protection. P337 + P313 - If eye irritation persists: Get medical advice/attention. P210 - Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking
 Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant	Signal word Warning Hazard Statements H302 - Harmful if swallowed Contains Polyethylene glycol 1,1,3,3-tetramethylbutylphenyl ether

SHELF LIFE AND STORAGE

Shelf life of the Para-Pak CON-Trate system is indicated on the outer package label. Store at 15-30 C. Do not freeze.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

A. SPECIMEN COLLECTION

1. The patient must be properly instructed and assisted in the collection of the fecal sample. Refer to Meridian Para-Pak collection/transport kit product inserts or appropriate references for recommended collection and transport methods.
2. Any specimen preserved in 10% formalin, SAF, or an unpreserved fecal sample may be used with the CON-Trate System.

B. SPECIMEN QUALITY ASSURANCE

To assure a suitable clinical specimen using the CON-Trate System, observe the following:

1. The specimen/preservative mixture must be stored for a minimum of 30 minutes after collection for adequate fixation. **IMPORTANT:** Mix contents thoroughly.
2. The specimen must have been maintained at room temperature.
3. Adequate sample must be present. (2-3) gm of stool in 15 mL fixative is recommended.

C. SPECIMEN PROCESSING

1. **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, 2, 7, 12}
 - a. Transfer 3-5 grams of unpreserved stool into 15 mL preservative of choice, for economy and convenience, use Meridian Para-Pak 10% Buffered Neutral Formalin (Catalog #900412) or SAF (Catalog #900212). Mix stool/preservative mixture thoroughly, break up any lumps or fecal masses (shaking for one minute is usually sufficient). The stool/preservative mixture should stand for a minimum of 30 minutes for adequate fixation. Follow procedure for use below for the preservative selected.
2. **Immediate processing of unpreserved specimens⁹**
 - a. Transfer 5-6 grams of unpreserved stool into 10-15 mL of physiological saline. Mix stool/saline mixture thoroughly, break up any lumps or fecal masses.
 - b. Add 4 drops of CON-Trate Reagent A to the mixture. (Up to 8 drops of Reagent A may be added if the specimen is highly mucoid.)
 - c. Cap and mix the contents thoroughly by shaking.
 - d. Insert one of the CON-Trate filtering devices into the top of one of the disposable centrifuge tubes provided.
 - e. 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.
 - f. Discard filtering device, add 10 mL physiological saline and centrifuge at 500 xg for 10 minutes (1800-2200 rpm). Decant the supernatant fluids, retaining the sediment. About 1 mL of sediment should be present. A portion of the sediment may be used for detection of *Cryptosporidium*. Consult an appropriate reference for proper preparation and examination. (See Hint 6)
 - g. 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.)
 - h. Add approximately 3 mL of CON-Trate Reagent B, 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 your person.
 - i. Centrifuge the tube at 500 xg for 10 minutes (1800-2200 rpm). Examination of the tube after centrifugation should reveal four distinct layers from the top down:
 1. a layer consisting of Reagent B
 2. a "plug" of fecal debris
 3. a discolored aqueous layer
 4. a sediment layer, containing the parasites.

The final sediment remaining should be approximately 0.25 mL.
 - j. 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 CLEANED WITH COTTON TIPPED SWABS.**
 - k. Transfer a portion of the sediment to a clean glass microscope slide and prepare the mount of choice. Examine microscopically. Consult an appropriate reference for proper preparation and examination.^{5, 7, 9}
3. **Formalin preserved specimens**
 - a. Add 4 drops of CON-Trate Reagent A to the specimen in the fixative vial. (Up to 8 drops of Reagent A may be added if the specimen is highly mucoid)
 - b. Cap and mix the contents thoroughly shaking.
 - c. Insert one of the CON-Trate Filtering devices into the top of one of the disposable centrifuge tubes provided.
 - d. 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.
 - e. Discard filtering device, add 10 mL saline and centrifuge at 500 xg for 10 minutes (1800-2200 rpm). Decant the supernatant fluids, retaining the sediment. A portion of the sediment may be used for detection of *Cryptosporidium*. Consult an appropriate reference for proper preparation and examination. (See Hint 6)
 - f. Resuspend the sediment in 9 mL of 10% formalin.
 - g. Add approximately 3 mL of CON-Trate Reagent B, 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 your person.
 - h. Centrifuge the tube at 500 xg for 10 minutes (1800-2200 rpm). Examination of the tube after centrifugation should reveal four distinct layers from the top down:
 1. a layer consisting of Reagent B
 2. a "plug" of fecal debris
 3. a discolored aqueous layer
 4. a sediment layer, containing the parasites.

The final sediment remaining should be approximately 0.25 mL.

- i. 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 GLEANED WITH COTTON TIPPED SWABS.**
 - j. Transfer a portion of the sediment to a clean glass microscope slide and prepare the mount of choice. Examine microscopically. Consult an appropriate reference for proper preparation and examination.^{5, 7, 9}
4. **SAF preserved specimens**
- a. Add 4 drops of CON-Trate Reagent A to the specimen in the fixative vial (Up to 8 drops of Reagent A may be added if the specimen is highly mucoid).
 - b. Cap and mix the contents thoroughly by shaking the vial several times.
 - c. Insert one of the CON-Trate filtering devices into the top of one of the disposable centrifuge tubes provided.
 - d. 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.
 - e. Discard filtering device, add 10 mL saline and centrifuge at 500 xg for 10 minutes (1800-2200 rpm). Decant the supernatant fluids retaining the sediment. A portion of the sediment may be used for detection of *Cryptosporidium* species. Consult an appropriate reference for proper preparation and examination. (See Hint 6)
 - f. If permanent stained smears are to be prepared:
 1. Transfer some of the sediment to a drop of Mayer's Albumin on a slide.
 2. Mix well, then spread mixture over a clean, glass microscope slide producing an uneven film (thick and thin areas). This smear should be allowed to dry and can then be stained with a permanent stain such as Iron Hematoxylin or Wheatley's Trichrome (Catalog #400101).²
 - g. Resuspend the sediment in 9 mL of 10% formalin.
 - h. Add approximately 3 mL of Reagent B, 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 your person.
 - i. Centrifuge the tube at 500 xg for 10 minutes (1800-2200 rpm). Examination of the tube after centrifugation should reveal four distinct layers from the top down:
 1. a layer consisting of Reagent B
 2. a "plug" of fecal debris
 3. a discolored aqueous layer
 4. a sediment layer, containing the parasites.

The final sediment remaining should be approximately 0.25 mL.
 - j. 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 CLEANED WITH COTTON TIPPED SWABS.**
 - k. Transfer a portion of the sediment to a clean glass microscope slide and prepare the mount of choice. Examine microscopically. Consult an appropriate reference for proper preparation and examination.^{5, 7, 9}

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The Meridian Para-Pak CON-Trate System, when used as directed under procedure for use, during clinical evaluation was found to provide results comparable/equivalent/superior⁸ to the standard Ritchie-Formalin ether (Ethyl Acetate) sedimentation concentration procedure.

MucoPenX (Reagent A) has been formulated to break down the mucus present in stool specimens and will not interfere with staining procedures or cause distortion of parasites.

HINTS

Experience will dictate appropriate techniques and volumes to assure an adequate sediment for microscopic examination. The following is a list of hints and suggestions which will accomplish this objective.

1. **Volume of preserved fecal suspension to add through the filler device:** After the first centrifugation, a sediment of 1.0 mL is optimum. In a dense fecal suspension, with a ratio of stool to preservative of 1:3-1:5, 3.0 mL of filtrate will provide the optimum sediment volume. In less dense fecal suspensions; such as one would see in a watery stool, larger volumes of filtrate are necessary. In some instances, as much as 10.0 - 12.0 mL of filtrate may be necessary. The hint is that the **decreasing** density of the preserved, fecal suspension dictates a proportional **increase** in the filtrate volume. If sufficient fecal material was present in the original fecal suspension and care was taken in adjusting the filtrate volume, the final sediment volume, after concentration, optimally, should be 0.25 mL. Attention to detail and experience will provide the anticipated results.
2. **Fecal suspension should not be forced through the filter device:** With very dense fecal suspensions, the flow rate through the filter device is slow. Do not force the material through the filter device by scraping with applicator sticks or washing the aqueous solutions. Such action often forces hard, grit-like material through the filter device. The presence of these materials in wet mount preparations results in a non-uniform flow or distribution of materials under the coverslip, making coverslipping difficult. The problem is minimized by adding the recommended amount of Reagent A and thoroughly mixing the specimen/fixative mixture. Vegetative matter may cover the screen in the filtration device; this may be removed by gently running an applicator stick through the material, or by tapping the side of the filtration device.
3. **Swabbing centrifuge tube:** Failure to swab the sides of the centrifuge tube after decanting the Reagent B, fecal debris plug and aqueous layer can result in a poor wet mount preparation. Allowing Reagent B, which is not miscible in the aqueous solutions, to run back into the sediment, will result in wet mount preparations which are not uniform due to the presence of the Reagent B.
4. **Sediment:** When the CON-Trate procedure is followed correctly, the sediment will appear dry and gritty. To facilitate reading, a drop of saline should be added to the sediment on the slide and the coverslip floated on top.
5. **Wet Preparation Theory:** Tradition has dictated that a direct microscopic examination be performed on stool specimens submitted to the laboratory. Tradition has perhaps obscured the rationale for this requisite. The direct microscopic examination of fresh, unpreserved, stool specimens or bowel materials facilitated the identification of protozoa by noting the characteristic motility of protozoan trophozoites. The common practice of submitting preserved stool specimens to the laboratory may eliminate the need for the direct microscopic examination. The detection rate of parasites may be increased by performing the first microscopic examination on the first centrifuged sediment, or by staining the sediment from an SAF preserved specimen with Wheatley's Trichrome or Iron Hematoxylin.
6. ***Cryptosporidium* Prep Using Para-Pak:**

For loose or watery stools:

After filtration of specimen, centrifuge sample at 500 xg for a full 10 minutes (1800-2200 rpm for most tabletop centrifuges). Decant the supernatant fluid. Approximately 0.5 to 1.0 mL of sediment should remain. Mix the sediment and prepare a smear for *Cryptosporidium*.

For semi-solid or solid stools:

Perform entire concentration procedure and prepare a slide from the sediment per lab protocol.

Kit di concentrazione delle feci Para-Pak® Sistema CON-Trate®

REF 960200

IVD

Rx Only

FINALITÀ D'USO

CON-Trate Meridian Para-Pak è un sistema completo per la concentrazione e il recupero nelle feci di uova di elminti, larva e cisti di protozoi. I sistemi in kit possono essere usati facilmente anche da persone non pratiche nelle procedure microbiologiche, e sono particolarmente utili nel ridurre al minimo gli effetti negativi causati da un ritardo nel trasporto dei campioni.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Una diagnosi esatta delle parassitosi intestinali dipende dalla corretta esecuzione della raccolta, del trasporto, del rilevamento e dell'identificazione di parassiti nei campioni di feci.^{1,2,4,5,7,9}

Il rilevamento e l'identificazione di piccole quantità di uova di elminti a di cisti di protozoi da grandi quantità di materiale fecale è di fondamentale importanza per la diagnosi delle parassitosi intestinali.

Dal punto di vista storico, i campioni di feci fissati in formalina al 10% sono stati usati in procedure di concentrazione per il rilevamento e l'identificazione di elementi parassiti.^{1,2,6,9,10,12,13} Sono stati portati avanti studi sull'utilizzo di altri fissativi, quali il SAF¹². Il sistema CON-Trate Meridian Para-Pak unisce una metodologia comprovata ai recenti progressi che ottimizzano il rilevamento a l'identificazione riducendo al minimo la preparazione dei campioni, che può avvenire in maniera sicura, standardizzata e di facile esecuzione.⁸

PRINCIPI BIOLOGICI

Il sistema CON-Trate Meridian Para-Pak utilizza metodi efficienti e convenienti in termini di costi per il recupero di cisti di protozoi, uova di elminti (incluse quelle opercolate) e larva da campioni di feci conservati.

1. Aggiungendo il reagente A CON-Trate e mescolando bene i campioni conservati è possibile migliorare la scomposizione degli aggregati fecali e del muco, liberando in questo modo i parassiti.⁸
2. Filtrando la sospensione feci-reagente A con l'apposito dispositivo di filtraggio CON-Trate si rimuovono gli aggregati e i residui fecali macroscopici.⁸
3. Agitando la sospensione feci-reagente A-reagente B si forma una miscela colloidale. La centrifugazione concentra gli elementi parassiti in uno strato sedimentario. La maggior parte dei residui fecali viene eliminata con il liquido supernatante.
4. Sostituendo nel sistema l'etere etilico con il reagente B CON-Trate si ottiene un recupero dei parassiti equivalente o addirittura migliore.^{6,11,13} Il reagente B CON-Trate è meno infiammabile dell'etere etilico. Non sono stati riportati fenomeni di distorsione o di distruzione degli elementi parassiti.^{6,11,13}

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

1. CON-Trate tubes (articolo #3810A)
2. CON-Trate Reagent A (articolo #9601-01)
3. Ethyl Acetate, Reagent B (articolo #4160-02)
4. Spin-Con Funnel and filter (articolo #3814A)
5. Caps for CON-Trate (articolo #3813)

MATERIALI NON FORNITI

1. Bacchette con punta in cotone
2. Vetrini da microscopio e vetrini coprioggetto
3. Soluzione fisiologica salina, soluzione di formalina tamponata al 10%
4. Centrifuga
5. Microscopio
6. Pipette

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. **ATTENZIONE:** Il reagente B CON-Trate è infiammabile. Eseguire tutte le procedure in un'area ben ventilata. Non utilizzare in presenza di fiamme aperte e fonti di ignizione. Evitare il contatto con la cute o gli occhi. Non inspirare i vapori.
3. Adottare tecniche idonee per il maneggiamento e lo smaltimento di tutti i campioni e i materiali di laboratorio e ospedalieri a rischio biologico.
4. La concentrazione di campioni di feci per l'esame parassitologico è solo una parte integrante dello schema generale per l'identificazione dei parassiti intestinali. Ulteriori test e procedure sono reperibili negli appropriati riferimenti.
5. Questo prodotto non deve essere utilizzato se:
 - a. Si è superata la data di scadenza riportata sull'etichetta.
 - b. Non sono state osservate le corrette condizioni di conservazione.
6. **IMPORTANTE:** per ulteriori informazioni sulla sicurezza e sui pericoli, consultare la SDS.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato a Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 USA o al Centro di assistenza tecnica al numero 1-800-343-3858 e all'autorità competente dello Stato membro dell'UE in cui si trovano il medico e/o il paziente.

 Ethyl Acetate / Reagent B	Segnalazione Pericolo Contiene Acetato di etile Indicazioni di pericolo H225 - Liquido e vapori facilmente infiammabili H315 - Provoca irritazione cutanea H319 - Provoca grave irritazione oculare H336 - Può provocare sonnolenza o vertigini EUH066 - L'esposizione ripetuta può provocare secchezza o screpolature della pelle Consigli di Prudenza - UE (§28, 1272/2008) P321 - Trattamento specifico (vedere section 4 su questa etichetta). P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso. P280 - Indossare protezione per occhi/viso. P337 + P313 - Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico. P210 - Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.
 Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant	Segnalazione Avvertenze Indicazioni di Pericolo H302 – Nocivo se ingerito Contiene Polyethylene glycol 1,1,3,3-tetramethylbutylphenyl ether

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La durata utile del sistema Para-Pak CON-Trate è indicata sull'etichetta della confezione esterna. Conservare a 15-30 C. Non congelare.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI**A. RACCOLTA DEI CAMPIONI**

1. E necessario fornire istruzioni dettagliate e assistenza al paziente per la raccolta dei campioni di feci. Fare riferimento all'inserito del kit di raccolta/trasporto Meridian Para-Pak o ai relativi riferimenti per quanto riguarda i metodi consigliati di raccolta e trasporto.
2. Con il sistema CON-Trate è possibile utilizzare i campioni conservati in formalina al 10%, SAF, o i campioni di feci non conservati.

B. CONTROLLO QUALITÀ DEI CAMPIONI

Per assicurare l'adeguatezza dei campioni clinici con il sistema CON-Trate, attenersi alla seguente procedura:

1. Per un corretto fissaggio, lasciare riposare la mistura campione/conservante per almeno 30 minuti dopo la raccolta. **IMPORTANTE:** Mescolare accuratamente il contenuto.
2. Il campione deve essere mantenuto a temperatura ambiente.
3. Deve essere presente un campione adeguato. Si consiglia di utilizzare (2-3) gm di feci in 15 mL di fissativo.

C. ANALISI DEI CAMPIONI

1. **Campioni non conservati** (per dei risultati ottimali, si consiglia di conservare i campioni al momento della raccolta). Il valore diagnostico di campioni non conservati e trasportati in ritardo potrebbe risultare limitato.^{1, 2, 7, 12}
 - a. Trasterire 3-5 grammi di feci non conservate in 15 mL di conservante a scelta. Per ragioni di convenienza, si consiglia di utilizzare la soluzione di formalina tamponata neutra al 10% Meridian Para-Pak (n. catalogo 900412), SAF (n. catalogo 900212). Mescolare accuratamente la mistura feci/conservante per sciogliere eventuali grumi o masse fecali. In genere è sufficiente mescolare per un minuto). Per un'adeguata fissazione, la mistura feci/conservante deve riposare per almeno 30 minuti. Attenersi alla procedura riportata di seguito per il conservante scelto.
2. **Analisi immediata dei campioni non conservati**⁹
 - a. Trasterire 5-6 grammi di feci non conservate in 10-15 mL di soluzione fisiologica salina. Mescolare accuratamente la mistura feci/soluzione salina, sciogliendo eventuali grumi o masse fecali.
 - b. Aggiungere alla mistura 4 gocce di reagente A CON-Trate. (Se il campione contiene molto muco, è possibile aggiungere fino a 8 gocce di reagente A.)
 - c. Tappare e agitare il contenuto per mescolarlo.
 - d. Inserire un dispositivo di filtraggio CON-Trate. nella parte superiore di una delle provette da centrifuga monouso fornite.
 - e. Versare la sospensione fecale nella provetta da centrifuga attraverso il dispositivo di filtraggio. In genere, 3 mL nella provetta da centrifuga sono sufficienti, a meno che la sospensione fecale non sia sottile.
 - f. Eliminare il dispositivo di filtraggio, aggiungere 10 mL di soluzione fisiologica salina e centrifugare a 500 xg per 10 minuti (1800-2200 giri/min.). Decantare il liquido supernatante, trattenendo il sedimento. Deve essere presente circa 1 mL di sedimento. Una parte del sedimento può essere utilizzata per il rilevamento del *Cryptosporidium*. Per le corrette procedure di preparazione ed esame, consultare il riferimento appropriato (vedere Suggerimento 6).
 - g. Risospendere il sedimento in 10 mL di soluzione di formalina tamponata. Lasciare riposare la mistura per almeno 5 minuti prima di procedere. A questo punto, è possibileappare la mistura nella provetta da centrifuga e metterla da parte.
 - h. Aggiungere circa 3 mL di reagente B CON-Trate., tappare la provetta e agitare per 30 secondi. Mentre la si agita, girare la provetta. **ATTENZIONE:** durante questa operazione, potrebbe formarsi della pressione all'interno della provetta. Tendendo la provetta da centrifuga a debita distanza, depressurizzare aprendo con cautela il tappo.
 - i. Centrifugare la provetta a 500 xg per 10 minuti (1800-2200 giri/min.). L'esame della provetta dopo la centrifugazione dovrebbe rilevare quattro strati distinti, dall'alto verso il basso:
 1. uno strato di reagente B
 2. uno strato di residui fecali
 3. uno strato acquoso semitrasparente
 4. uno strato di sedimenti, contenente i parassiti
Il sedimento finale residuo deve essere all'incirca di 0,25 mL.
 - j. Tenere la provetta in posizione verticale. Eliminare lo strato di residui con una bacchetta di legno per applicazioni Decantare gli strati superiori, lasciando il sedimento. **CAPOVOLGERE LA PROVETTA SOLO DOPO AVERNE PULITO I LATI CON UN TAMPONE DI COTONE.**
 - k. Trasferire una porzione di sedimento su un vetrino da microscopio, pulito ed allestire il preparato desiderato. Esaminare al microscopio. Per le corrette procedure di preparazione e di esame, consultare il riferimento appropriato.^{5, 7, 9}
3. **Campioni conservati in formalina**
 - a. Aggiungere 4 gocce di reagente A CON-Trate al campione nella fiala di fissativo. Se il campione contiene molto muco, è possibile aggiungere fino a 8 gocce di reagente A.
 - b. Tappare e agitare il contenuto per mescolarlo.
 - c. Inserire un dispositivo di filtraggio CON-Trate nella parte superiore di una delle provette da centrifuga monouso fornite.
 - d. Versare la sospensione fecale nella provetta da centrifuga attraverso il dispositivo di filtraggio. In genere, 3 mL nella provetta da centrifuga sono sufficienti, a meno che la sospensione fecale non sia sottile.
 - e. Eliminare il dispositivo di filtraggio, aggiungere 10 mL di soluzione fisiologica salina e centrifugare a 500 xg per 10 minuti (1800-2200 giri/min.). Decantare il liquido supernatante, trattenendo il sedimento. Una parte del sedimento può essere utilizzata per il rilevamento del *Cryptosporidium*. Per le corrette procedure di preparazione ed esame, consultare il riferimento appropriato (vedere Suggerimento 6).
 - f. Risospendere il sedimento in 9 mL di formalina al 10%.
 - g. Aggiungere circa 3 mL di reagente B CON-Trate, tappare la provetta e agitare per 30 secondi. Mentre la si agita, girare la provetta. **ATTENZIONE:** durante questa operazione, potrebbe formarsi della pressione all'interno della provetta. Tendendo la provetta da centrifuga a debita distanza, depressurizzare aprendo con cautela il tappo.

- h. Centrifugare la provetta a 500 xg per 10 minuti (1800-2200 giri/min.). L'esame della provetta dopo la centrifugazione dovrebbe rilevare quattro strati distinti, dall'alto verso il basso:
 1. uno strato di reagente B
 2. uno strato di residui fecali
 3. uno strato acquoso semitrasparente
 4. uno strato di sedimenti, contenente i parassiti.
 Il sedimento finale residuo deve essere all'incirca di 0,25 mL.
 - i. Tenere la provetta in posizione verticale. Eliminare lo strato di residui con una bacchetta di legno per applicazioni. Decantare gli strati superiori, lasciando il sedimento. **CAPOVOLGERE LA PROVETTA SOLO DOPO AVERNE PULITO I LATI CON UN TAMPONE DI COTONE.**
 - j. Trasferire una porzione di sedimento su un vetrino da microscopio pulito ed allestire il preparato desiderato. Esaminare al microscopio. Per le corrette procedure di preparazione e di esame, consultare il riferimento appropriato.^{5, 7, 9}
4. **Campioni conservati in SAF**
- a. Aggiungere 4 gocce di reagente A CON-Trate al campione nella fiala di fissativo. (Se il campione contiene molto muco, è possibile aggiungere fino a 8 gocce di reagente A.)
 - b. Tappare a agitare diverse volte il contenuto della fiala per mescolarlo.
 - c. Inserire un dispositivo di filtraggio CON-Trate nella parte superiore di una delle provette da centrifuga monouso fornite.
 - d. Versare la sospensione fecale nella provetta da centrifuga attraverso il dispositivo di filtraggio. In genere, 3 mL nella provetta da centrifuga sono sufficienti, a meno che la sospensione fecale non sia sottile.
 - e. Eliminare il dispositivo di filtraggio, aggiungere 10 mL di soluzione fisiologica salina e centrifugare a 500 xg per 10 minuti (1800-2200 giri/min.). Decantare il liquido supernatante, trattenendo il sedimento. Una parte del sedimento può essere utilizzata per il rilevamento del *Cryptosporidium*. Per le corrette procedure di preparazione ed esame, consultare il riferimento appropriato (vedere Suggerimento 6).
 - f. Se occorre preparare uno striscio colorato permanente:
 1. Trasferire parte del sedimento in una goccia di Albumina di Mayer su un vetrino.
 2. Mescolare bene e spandere la mistura su un vetrino da microscopio pulito, producendo una pellicola non uniforme (aree spesse e sottili). Lo striscio deve essere lasciato asciugare e quindi colorato in modo permanente con, ad esempio, ematossilina ferrica o soluzione *tricromica di Wheatley* (n. catalogo 400101).²
 - g. Risospendere il sedimento in 9 mL di formalina al 10%.
 - h. Aggiungere circa 3 mL di reagente B CON-Trate, tappare la provetta e agitare per 30 secondi. Mentre la si agita, girare la provetta. **ATTENZIONE:** durante questa operazione, potrebbe formarsi della pressione all'interno della provetta. Tendendo la provetta da centrifuga a debita distanza, depressurizzare aprendo con cautela il tappo.
 - i. Centrifugare la provetta a 500 xg per 10 minuti (1800-2200 giri/min.). L'esame della provetta dopo la centrifugazione dovrebbe rilevare quattro strati distinti, dall'alto verso il basso:
 1. uno strato di reagente B
 2. uno strato di residui fecali
 3. uno strato acquoso semitrasparente
 4. uno strato di sedimenti, contenente i parassiti
 Il sedimento finale residuo deve essere all'incirca di 0,25 mL.
 - j. Tenere la provetta in posizione verticale. Eliminare lo strato di residui con una bacchetta di legno per applicazioni. Decantare gli strati superiori, lasciando il sedimento. **CAPOVOLGERE LA PROVETTA SOLO DOPO AVERNE PULITO I LATI CON UN TAMPONE DI COTONE.**
 - k. Trasferire una porzione di sedimento su un vetrino da microscopio pulito ed allestire il preparato desiderato. Esaminare al microscopio. Per le corrette procedure di preparazione e di esame, consultare il riferimento appropriato.^{5, 7, 9}

PRESTAZIONI SPECIFICHE

È stato riscontrato che il sistema Meridian Para-Pak CON-Trate, se utilizzato come indicato nelle procedure, durante la valutazione clinica fornisce risultati confrontabili/equivalenti/superiori⁸ alla procedura di concentrazione della sedimentazione di etilacetato standard.

Il MucoPenX (reagente A) è stato formulato in modo da sciogliere il muco presente nei campioni di feci. Non interferisce nelle procedure di colorazione e non causa alterazione dei parassiti.

SUGGERIMENTI

Le tecniche e i volumi più adatti per assicurare la presenza di un sedimento per l'esame microscopico verranno man mano acquisiti con l'esperienza. Di seguito viene riportato un elenco di suggerimenti per il raggiungimento di questo obiettivo.

1. **Volume della sospensione fecale conservata da aggiungere tramite il dispositivo di filtraggio:** Dopo la prima centrifugazione, è auspicabile avere un sedimento di 1,0 mL. In una sospensione fecale densa, con un rapporto feci/conservante di 1:3-1:5, 3,0 mL di filtrato costituiscono il volume ottimale di sedimento. In sospensioni fecali meno dense, come nel caso di feci acquose, è necessario un volume maggiore di filtrato. In alcuni casi, potrebbe essere necessario un volume pari a 10,0-12,0 mL di filtrato. Pertanto, una **minore** densità della sospensione fecale conservata richiede un **aumento** proporzionale del volume del filtrato. Se nella sospensione fecale originale era presente una quantità sufficiente di materia fecale e si è provveduto a modificare il volume del filtrato, il volume del sedimento finale, dopo la concentrazione, dovrebbe essere di 0,25 mL. Per ottenere i risultati previsti, oltre all'esperienza, occorre porre molta attenzione ai dettagli.
2. **La sospensione fecale non deve essere forzata nel dispositivo di filtraggio:** Con sospensioni fecali molto dense, il passaggio attraverso il dispositivo di filtraggio risulta lento. Non forzare il materiale nel dispositivo di filtraggio con le bacchette o sciacquando le soluzioni acquose. Tali operazioni spesso forzano il passaggio di materiale solido, simile a sabbia, nel dispositivo di filtraggio. La presenza di tale materiale nei preparati causa un flusso o una distribuzione non uniforme del materiale sotto il vetrino coprioggetto, rendendo difficile il posizionamento di tale vetrino. Per ovviare a questo problema, aggiungere la quantità consigliata di reagente A e mescolare accuratamente la mistura campione/ fissativo. La materia vegetativa potrebbe coprire lo schermo del dispositivo di filtraggio. Per ovviare a questo problema, rimuoverla con delicatezza utilizzando una bacchetta o battere leggermente sul lato del dispositivo di filtraggio.
3. **Tamponamento della provetta da centrifuga:** Se non si precede a tamponare i lati della provetta da centrifuga dopo avere decantato il reagente B, i residui fecali potrebbero formare un'ostruzione causando un preparato troppo secco dello strato acquoso. Se il reagente B, che non è miscelabile con le soluzioni acquose, torna nel sedimento, i preparati umidi non risulteranno uniformi a causa della presenza di tale reagente.
4. **Sedimento:** Se la procedura CON-Trate viene seguita correttamente, il sedimento ha un aspetto asciutto e sabbioso. Per facilitare la lettura, è necessario aggiungere al vetrino con il sedimento una goccia di soluzione salina e posizionare il vetrino coprioggetto.
5. **Teoria del preparato umido:** Per tradizione, l'esame microscopico diretto viene eseguito su campioni di feci inviati al laboratorio e forse tale procedura ha in qualche misura oscurato la base logica. L'esame microscopico diretto di campioni di feci o di materiale intestinale freschi e non conservati ha facilitato l'identificazione di protozoi esaminando la caratteristica motilità dei trofozoiti dei protozoi. L'abitudine comune di inviare al laboratorio campioni di feci conservati potrebbe eliminare la necessità dell'esame microscopico diretto. La percentuale di rilevamento dei parassiti può essere aumentata eseguendo il primo esame microscopico sul primo sedimento centrifugato o colorando il sedimento di un campione conservato in SAF con soluzione tricromica di Wheatley o ematossilina ferrica.
6. **Preparazione del *Cryptosporidium* con Para-Pak:**
Con feci lente o acquose:
 Dopo avere filtrato il campione, centrifugarlo a 500 xg per almeno 10 minuti (1800-2200 giri/mn. per la maggior parte delle centrifughe da tavolo). Lasciare decantare il liquido supernatante. Dovrebbe restare all'incirca 0,5-1,0 mL di sedimento. Mescolare il sedimento e preparare uno striscio per il *Cryptosporidium*.
Con feci semisolide o solide:
 Eseguire la completa procedura di concentrazione e preparare un vetrino del sedimento per il protocollo di laboratorio.

Kit de concentration de selles Para-Pak® Systeme CON-Trate®

REF 960200

IVD

Rx Only

BUT DE LA METHODE

Le système Meridian Para-Pak CON-Trate est destiné à la concentration et à la mise en évidence des oeufs ou des larves d'helminthes et des kystes de protozoaires contenus dans les selles. Ces systèmes présentés sous forme de kits sont conçus pour être facilement utilisés par des personnes non formées aux méthodes microbiologiques et fournissent un excellent moyen de minimiser les effets indésirables des délais lors du transport d'échantillons.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le diagnostic d'une infection parasitaire intestinale dépend de la bonne exécution du recueil, du transport, de la détection et de l'identification des parasites dans les échantillons de selles.^{1, 2, 4, 5, 7, 9}

La détection et l'identification d'un faible volume d'oeufs d'helminthes et de kystes protozoaires à partir d'une grande quantité de selles est primordiale pour le diagnostic d'une infection parasitaire intestinale.

Généralement, les techniques de concentration pour la détection et l'identification d'éléments parasitaires reposent dans la pratique courante sur la fixation des matières fécales dans de la formaline à 10 %.^{1, 2, 6, 9, 10, 12, 13} Des chercheurs ont étudié l'utilisation d'autres fixateurs, tels que SAF.¹² Le système Meridian Para-Pak CON-Trate associé à une méthodologie ayant fait ses preuves et les avancées récentes réalisées ont permis d'optimiser la détection, l'identification, et de réduire le temps de préparation des échantillons de manière aisée, standardisée et sécurisée.⁸

PRINCIPE DU TEST

Le système Meridian Para-Pak CON-Trate est une méthode efficace et économique de détection des kystes de protozoaires, des oeufs (oeufs operculés compris) et des larves d'helminthes dans les échantillons de selles fixées.

1. L'addition du réactif A CON-Trate aux échantillons de selles fixées et le mélange homogène de l'ensemble renforce la décomposition des agrégats fécaux et du mucus, et libère les parasites.⁸
2. Le filtrage de la suspension selles-solution A à travers le filtre CON-Trate retient les agrégats fécaux macroscopiques et les résidus.⁸
3. L'agitation de la suspension selles réactif A-réactif B forme un mélange colloïdal. La centrifugation concentre les éléments parasitaires dans une couche de sédiment. La plus grande partie des résidus fécaux sont éliminés avec le surnageant.
4. Le réactif B CON-Trate substitué à l'éther éthylique permet d'obtenir un taux de récupération des parasites équivalent ou supérieur.^{6, 11, 13} Le réactif B CON-Trate est moins inflammable que l'éther éthylique. Aucune distorsion ou destruction des éléments parasitaires n'a été rapportée.^{6, 11, 13}

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. CON-Trate tubes (article #3810A)
2. CON-Trate Reagent A (article #9601-01)
3. Ethyl Acetate, Reagent B (article #4160-02)
4. Spin-Con Funnel and filter (article #3814A)
5. Caps for CON-Trate (article #3813)

MATERIEL NON FOURNI

1. Tampon d'ouate monté sur bâtonnet applicateur
2. Lames de microscope et lamelles
3. Sérum physiologique, formaline tamponnée à 10 %
4. Centrifugeur
5. Microscope
6. Pipettes

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. ATTENTION : La solution B CON-Trate est inflammable. Exécuter toutes les procédures dans des locaux bien ventilés. Eviter les flammes à l'air libre et les dispositifs d'allumage. Eviter tout contact avec la peau et les yeux. Eviter de respirer les émanations.
3. Observer les consignes de manipulation et d'élimination des échantillons cliniques et des échantillons de laboratoires présentant un risque biologique.
4. La concentration des échantillons fécaux pour examen parasitaire ne constitue qu'une partie de la stratégie d'identification des parasites intestinaux. Se référer aux ouvrages consacrés aux autres tests et procédures.
5. Le produit ne doit pas être utilisé si :
 - a. La date d'expiration figurant sur l'étiquette a été atteinte.
 - b. Les conditions appropriées de stockage n'ont pas été respectées.
6. IMPORTANT : Voir la fiche de sécurité pour des informations supplémentaires concernant la sécurité et les dangers.

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé à Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244, États-Unis, ou au Centre de service clientèle au 1-800-343-3858 ainsi qu'à l'autorité compétente de l'État membre de l'UE où le du clinicien et/ou le patient sont établis.

 Ethyl Acetate / Reagent B	Mention d'avertissement Danger Contient Acétate déshyle Mentions de danger H225 - Liquide et vapeurs très inflammables H315 - Provoque une irritation cutanée H319 - Provoque une sévère irritation des yeux H336 - Peut provoquer somnolence ou vertiges EUH066 - L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau Conseils de prudence - UE (par 28, 1272/2008) P231 - Traitement spécifique (voir section 4 sur cette étiquette). P264 - Se laver le visage, les mains et toute surface de peau exposée soigneusement après manipulation. P280 - Porter un équipement de protection des yeux/du visage. P337 + P313 - Si l'irritation oculaire persiste : Consulter un médecin. P210 - Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.
 Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant	Mention d'avertissement Attention Mentions de danger H302 - Nocif en cas d'ingestion Contient Poly(oxy-1,2-éthanediyle), .alpha.-[4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phényl]-.oméga.-hydroxy-

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La durée de conservation du système Para-Pak CON-Trate est indiquée sur son étiquette d'emballage. Conserver à 15-30 C. Ne pas congeler.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS**A. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS**

- Des instructions précises doivent être fournies au patient pour le recueil de l'échantillon fécal. Se référer aux notices qui accompagnent les kits de prélèvement et de transport Meridian Para-Pak ou aux ouvrages de référence pour connaître les méthodes de prélèvement et de transport recommandées.
- Le système CON-Trate peut être employé aussi bien sur un échantillon conserve dans de la formaline à 10 %, une solution SAF, que sur un échantillon de selles ne contenant pas d'agent de conservation.

B. ASSURANCE QUALITE DES ECHANTILLONS

- Un certain nombre de mesures doivent être respectées pour assurer la qualité clinique des spécimens examinés à l'aide du système CON-Trate.
- Maintenir l'échantillon à la température ambiante.
 - La quantité de matière fécale doit être suffisante. Recommandation : 2 à 3 g de selles dans 15 mL de fixateur.

C. TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

- Echantillons ne contenant pas de conservateur.** Pour obtenir un résultat optimal, il est recommandé d'ajouter un conservateur dès le prélèvement. Les selles sans agent de conservation dont l'acheminement au laboratoire est retardé peuvent limiter la valeur diagnostique de l'épreuve.^{1, 2, 7, 12}
 - Diluer 3 à 5 grammes de selles sans agent de conservation dans 15 mL d'agent de conservation de votre choix. Meridian propose des produits pratiques et économiques : Para-Pak de formaline neutre tamponnée à 10 % (catalogue n 900412), solution SAF (catalogue n 900212). Bien mélanger l'ensemble selles/agent de conservation en veillant à désagréger les masses fécales (l'agitation du mélange pendant une minute est généralement suffisante). Laisser reposer le mélange 30 minutes minimum. Suivre la procédure ci-dessous se rapportant au conservateur utilisé.
- Traitement immédiat des échantillons contenant pas de conservateur.**⁹
 - Déposer 5 à 6 grammes de selles non fixées dans 10 à 15 mL de sérum physiologique. Bien mélanger l'ensemble selles/sérum physiologique en veillant à désagréger les masses fécales.
 - Ajouter au mélange 4 gouttes de solution A CON-Trate (jusqu'à 8 gouttes dans les échantillons extrêmement mucoides).
 - Mettre un bouchon et agiter pour obtenir un mélange homogène.
 - Placer un filtre CON-Trate dans l'ouverture du tube à centrifuger jetable fourni.
 - Verser la suspension fécale dans le tube à centrifuger à travers le filtre. 3 mL suffisent à moins que la suspension ne soit très claire.
 - Jeter le filtre, ajouter 10 mL de sérum physiologique et centrifuger 10 minutes à 500 xg (1800 à 2200 tours/minute). Décanter le surnageant et conserver le sédiment 1 mL généralement, dont une partie peut être utilisée pour la détection de *Cryptosporidium*. Se référer à la documentation ad hoc pour les procédures de préparation et d'examen. (Voir Conseil 6)
 - Remettre le sédiment en suspension dans 10 mL de formaline tamponnée. Laisser reposer le mélange pendant au moins 5 minutes avant de poursuivre. (A ce stade, le mélange du tube à centrifuger peut être fermé à l'aide d'un bouchon et stocké pour une utilisation ultérieure.)
 - Ajouter environ 3 mL de la solution B CON-Trate, mettre un bouchon et agiter 30 secondes en retournant le tube. **ATTENTION** : l'agitation peut faire monter la pression dans le tube. Pour libérer la pression, tenir le tube à centrifuger éloigné de vous et retirer délicatement le bouchon.
 - Centrifuger le tube à 500 xg pendant 10 minutes (1800 à 2200 tours/minute). Après centrifugation quatre couches se superposent, de haut en bas :
 - une couche de la solution B
 - un "bouchon" de résidus féaux
 - une couche aqueuse décolorée
 - une couche de sédiment final contenant les parasites
Le volume du sédiment final est d'environ 0,25 mL.
 - Enir le tube à la verticale. Retirer le bouchon de résidus à l'aide d'un bâtonnet applicateur. Décanter les couches supérieures (garder le culot). **NETTOYER LES PAROIS DU TUBE A L'AIDE DE COTON TIGES AVANT DE PLACER LE TUBE EN POSITION VERTICALE.**
 - Déposer une partie du sédiment sur un porte-objet en verre propre et préparer le montage approprié. Examiner la préparation au microscope. Se référer aux documents en référence pour les procédures de préparation et d'examen.^{5, 7, 9}
- Echantillons conservés avec de la formaline**
 - Ajouter 4 gouttes du réactif A CON-Trate dans le flacon de fixation contenant l'échantillon (jusqu'à 8 gouttes dans les échantillons extrêmement mucoides).
 - Mettre un bouchon et agiter pour obtenir un mélange homogène.
 - Placer un filtre CON-Trate dans l'ouverture du tube à centrifuger jetable fourni.
 - Verser la suspension fécale dans le tube à centrifuger à travers le filtre. 3 mL suffisent à moins que la suspension fécale ne soit claire.
 - Jeter le filtre, ajouter 10 mL de sérum physiologique et centrifuger 10 minutes à 500 xg (1800 à 2200 tours/minute). Décanter le surnageant et conserver le sédiment, dont une partie peut être utilisée pour la détection de *Cryptosporidium*. Consulter la documentation ad hoc pour les procédures de préparation et d'examen. (Voir Conseil 6)
 - Remettre le sédiment en suspension dans 9 mL de formaline à 10%.
 - Ajouter environ 3 mL du réactif B CON-Trate, mettre un bouchon et agiter 30 secondes en retournant le tube. **ATTENTION** : l'agitation peut faire monter la pression dans le tube. Pour libérer la pression, tenir le tube à centrifuger éloigné de vous et retirer délicatement le bouchon.

- h. Centrifuger le tube à 500 xg pendant 10 minutes (1800 à 2200 tours/minute). Après centrifugation quatre couches se superposent, de haut en bas :
 1. une couche de la solution B
 2. une "bouchon" de résidus fécaux
 3. une couche aqueuse décolorée
 4. une couche de sédiment final contenant les parasites
 Le volume du sédiment final est d'environ 0,25 mL.
 - i. Tenir le tube à la verticale. Retirer le bouchon de résidus à l'aide d'un bâtonnet applicateur en bois. Décanter les couches supérieures (garder le culot). **NETTOYER LES PAROIS DU TUBE A L'AIDE DE COTON TIGES AVANT DE PLACER LE TUBE EN POSITION VERTICALE.**
 - j. Déposer une partie du sédiment sur un porte-objet en verre propre et monter la préparation avec le milieu de votre choix. Examiner la préparation au microscope. Consulter la documentation ad hoc pour connaître les procédures de préparation et d'examen.^{5, 7, 9}
- 4. Échantillons conservés avec une solution SAF**
- a. Ajouter 4 gouttes du réactif A CON-Trate dans le flacon de fixation contenant l'échantillon (jusqu'à 8 gouttes dans les échantillons extrêmement mucoides).
 - b. Mettre un bouchon et obtenir un mélange homogène en agitant le tube plusieurs fois.
 - c. Placer un filtre CON-Trate dans l'ouverture du tube à centrifuger jetable fourni.
 - d. Verser la suspension fécale dans le tube à centrifuger à travers le filtre. 3 mL suffisent à moins que la suspension ne soit très claire.
 - e. Jeter le filtre, ajouter 10 mL de sérum physiologique et centrifuger 10 minutes à 500 xg (1800 à 2200 tours/minute). Décanter le surnageant et conserver le sédiment, dont une partie peut être utilisée pour la détection de *Cryptosporidium*. Consulter la documentation ad hoc pour connaître les procédures de préparation et d'examen. (Voir Conseil 6)
 - f. Si une partie de l'échantillon doit également être examinée après coloration :
 1. Déposer une partie du sédiment sur une goutte d'albumine de Mayers sur une lame.
 2. Bien mélanger, puis étaler sur une lame de microscope en verre propre de façon à former un film inégal (zones fines et épaisses). Laisser sécher. Colorer avec un colorant permanent, tel qu'hématoxyline de fer ou Trichrome de Wheatley (catalogue n 400101).²
 - g. Remettre le sédiment en suspension dans 9 mL dans de la formaline à 10%.
 - h. Ajouter environ 3 mL de la solution B, mettre un bouchon et agiter 30 secondes en retournant le tube. **ATTENTION** : l'agitation peut faire monter la pression dans le tube. Pour libérer la pression, tenir le tube à centrifuger éloigné de vous et retirer délicatement le bouchon.
 - i. Centrifuger le tube à 500 xg pendant 10 minutes (1800 à 2200 tours/minute). Après centrifugation quatre couches se superposent, de haut en bas :
 1. une couche de la solution B
 2. une "bouchon" de résidus fécaux.
 3. une couche aqueuse décolorée
 4. une couche de sédiment final contenant les parasites
 Le volume du sédiment final est d'environ 0,25 mL.
 - j. Tenir le tube à la verticale. Retirer le bouchon de résidus à l'aide d'un bâtonnet applicateur en bois. Décanter les couches supérieures (garder le culot). **NETTOYER LES PAROIS DU TUBE À L'AIDE DE COTON TIGES AVANT DE PLACER LE TUBE EN POSITION VERTICALE.**
 - k. Déposer une partie du sédiment sur une lame de microscope en verre propre et monter la préparation avec le milieu de votre choix. Examiner la préparation au microscope. Consulter les ouvrages cités en référence pour connaître les procédures de préparation et d'examen.^{5, 7, 9}

PERFORMANCES DU TEST

Une étude clinique du système Meridian Para-Pak CON-Trate utilisé selon les procédures décrites a révélé des résultats comparables/équivalents/supérieurs⁸ à la procédure de concentration de la sédimentation standard à l'acétate éthylique (Ritchie-Formaline).

MucoPenX (Réactif A) a été formulé de façon à décomposer le mucus présent dans les échantillons de selles, à ne pas interférer avec les procédures de coloration et à ne pas entraîner la distorsion des parasites.

CONSEILS

L'expérience dicte à l'utilisateur les volumes et les techniques qui assurent un sédiment propre à l'examen microscopique. Les conseils qui suivent sont destinés à faciliter cet objectif.

1. **Volume de la suspension fécale fixée à filtrer** : Après la première centrifugation, la valeur optimale de sédiment est de 1,0 mL. Dans une suspension fécale dense, avec un rapport selles/conservateur de 1:3 à 1:5, 3,0 mL de filtrat procure le volume de sédiment optimal. Dans les suspensions fécales moins denses, comme les selles liquides, un volume de filtrat plus important est nécessaire. Les suspensions fécales plus claires (selles liquides) nécessitent un volume de filtrat plus important (jusqu'à 10,0 mL, voire 12,0 mL). En règle générale, le volume de filtrat est inversement proportionnel à la densité de suspension des matières fécales fixées. Si les matières fécales sont suffisantes dans la suspension d'origine et que le volume de filtrat est adapté à la densité de la suspension, le sédiment final, après concentration, doit être de 0,25 mL. Pour atteindre les résultats escomptés, en plus de l'expérience, accorder une attention particulière aux détails.
2. **Ne pas forcer la suspension de matières fécales à travers le filtre** : L'écoulement des suspensions fécales denses à travers le filtre peut être lent. Il convient de ne pas tenter d'accélérer le processus en grattant le filtre avec un bâtonnet applicateur ou en diluant les solutions aqueuses, car cela risquerait de faire passer au travers du filtre des particules dures. La présence de telles matières dans les préparations de montage entraîne en effet une distribution irrégulière des matières sous la lamelle, qui s'avère difficile à mettre en place. Pour éviter ce problème, ajouter la quantité recommandée de réactif A au mélange échantillon fixateur et bien mélanger l'ensemble pour obtenir une fusion homogène. Si des matières végétatives couvrent le tamis du filtre, dégager soigneusement les matières à l'aide d'un bâtonnet applicateur ou tapoter le bord du filtre.
3. **Nettoyage du tube à centrifuger** : Une fois que le réactif B, le bouchon de résidus de matières fécales et la couche aqueuse ont été décantés, il est essentiel de nettoyer les parois du tube à centrifuger à l'aide d'un coton-tige. À défaut, une partie du réactif B, qui n'est pas miscible avec les solutions aqueuses, risque de repasser dans les sédiments et de dégrader la qualité de la préparation humide montée.
4. **Sédiment** : Lorsque la procédure CON-Trate est exécutée correctement, le sédiment apparaît sec et granuleux. Pour faciliter la lecture, ajouter une goutte de solution saline au sédiment sur la lame, et poser la lamelle dessus, en suspension.
5. **Théorie de la préparation humide** : La tradition veut que les échantillons de selles transmis à un laboratoire soient examinés directement au microscope, mais la persévérance de cette pratique n'est pas toujours rationnelle. L'examen microscopique direct des échantillons de selles fraîches, sans conservateur, facilite l'identification des protozoaires révélée par la mobilité caractéristique des trophozoïtes protozoaires. Dans la pratique courante, l'examen microscopique direct des échantillons de selles (avec conservateur) n'est plus nécessaire. Un premier examen microscopique exécuté sur le premier sédiment centrifugé ou la coloration du sédiment d'un échantillon préservé à l'aide d'une solution SAF avec Hématoxyline de fer ou Trichrome de fer ou Trichrome de Wheatley risque d'augmenter le taux de détection de parasites.
6. **Préparation *Cryptosporidium* avec Para-Pak :**
Selles liquides ou diarrhéiques :
 Centrifuger l'échantillon filtré à 500 xg pendant 10 minutes (1800 à 2200 tours/minute).
 Décanter le surnageant. Un culot de 0,5 à 1,0 mL demeure.
 Mélanger le culot et préparer un échantillon pour *Cryptosporidium*.
Selles solides ou semi solides :
 Exécuter la procédure de concentration complète, et préparer une lame à partir du sédiment selon le protocole du laboratoire.

Para-Pak® CON-Trate®

Sistema de concentración para muestras de materia fecal

REF 960200

IVD

Rx Only

USO INDICADO

El sistema Para-Pak CON-Trate Meridian es un sistema completo para concentrar y recuperar huevos y larvas de helminto, así como quistes de protozoarios presentes en materia fecal. Los sistemas del equipo están diseñados para un fácil uso por individuos no capacitados en procedimientos microbiológicos y son un excelente medio para minimizar los efectos adversos del retraso en el transporte de muestras.

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

El diagnóstico correcto de la infección parasítica intestinal depende de la recogida, el transporte, la detección y la identificación correctos de los parásitos presentes en muestras de materia fecal.^{1, 2, 4, 5, 7, 9}

En el diagnóstico de la infección parasítica intestinal son esenciales la detección y la identificación de un número bajo de huevos del helminto y quistes de protozoarios en un volumen grande de materia fecal.

Históricamente, las muestras de materia fecal fijadas en formalina al 10% se han utilizado en los procedimientos de concentración para la detección e identificación de parásitos.^{1, 2, 6, 9, 10, 12, 13} Algunos investigadores han informado acerca del uso de otros fijadores, como por ejemplo: formalina acetato de sodio (SAE).¹² El sistema Para-Pak CON-Trate de Meridian combina la metodología comprobada con los avances recientes que optimizan la detección e identificación, y minimizan la preparación de la muestra en una forma segura, estandarizada y de fácil realización.⁸

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

El sistema Para-Pak CON-Trate Meridian se vale de métodos eficientes y económicos para la recuperación de quistes de protozoarios, larvas y huevos de helminto (incluyendo los huevos operculados) de las muestras preservadas de materia fecal.

1. La adición del Reactivo CON-Trate A y la mezcla profusa de la muestra preservada facilita la desintegración de los agregados de materia fecal y moco, lo cual libera los parásitos.⁸
2. La filtración de la suspensión materia fecal-Reactivo A, mediante el dispositivo de filtración CON-Trate, remueve agregados macroscópicos de materia fecal y detritos.⁸
3. La agitación de la suspensión materia fecal-Reactivo A-Reactivo B forma una solución coloidal. La centrifugación concentra los parásitos en una capa de sedimento. La mayor parte de los detritos fecales se descarta en el sobrenadante.
4. La sustitución del Reactivo CON-Trate B por etil éter resulta en una recuperación de parásitos igual o mayor.^{6, 11, 13} El Reactivo CON-Trate B es menos inflamable que el etil éter. No se ha reportado ninguna distorsión o destrucción de la estructura de los parásitos.^{6, 11, 13}

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo esta indicado en el exterior de la caja.

1. CON-Trate tubes (artículo #3810A)
2. CON-Trate Reagent A (artículo #9601-01)
3. Ethyl Acetate, Reagent B (artículo #4160-02)
4. Spin-Con Funnel and filter (artículo #3814A)
5. Caps for CON-Trate (artículo #3813)

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Aplicadores de madera con punta de algodón
2. Láminas porta y cubreobjetos
3. Solución salina fisiológica, formalina tamponada al 10%
4. Centrifuga
5. Microscopio
6. Pipetas

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. **ATENCIÓN:** el Reactivo CON-Trate B es inflamable. Realice todos los procedimientos en un área con ventilación adecuada. Evite llamas abiertas, como así también dispositivos de encendido. Evite el contacto de la solución con su piel y ojos, así como la inhalación de las emanaciones.
3. Manipule y deseche, utilizando una técnica estandarizada, todas las muestras clínicas y de laboratorio que representen materiales biológicos potencialmente peligrosos.
4. La concentración de muestras de materia fecal para el examen parasitológico es solamente una parte integral del algoritmo general para la identificación de parásitos intestinales. Se puede encontrar otros procedimientos y pruebas adicionales en las referencias correspondientes.
5. Este producto no debe utilizarse si:
 - a. Ha expirado la fecha de caducidad indicada en la etiqueta
 - b. No se respetaron las condiciones adecuadas de almacenamiento
6. **IMPORTANTE:** Consulte la FDS para obtener información adicional sobre la seguridad y los riesgos.

Cualquier incidente grave que haya podido producirse en relación con el producto debe notificarse a Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 EE. UU., o llamando al teléfono del Centro de Asistencia Técnica (1-800-343-3858), y a las autoridades competentes del Estado Miembro de la UE en el que resida el médico y/o el paciente.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

 Ethyl Acetate / Reagent B	Palabras de advertencia Peligro Contiene Acetato de etilo Indicaciones de peligro H225 - Líquido y vapores muy inflamables H315 - Provoca irritación cutánea H319 - Provoca irritación ocular grave H336 - Puede provocar somnolencia o vértigo EUH066 - La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel Consejos de prudencia - UE (§28, 1272/2008) P221 - Se necesita un tratamiento específico (ver section 4 en esta etiqueta). P264 - Lavarse la cara, las manos y las áreas de la piel expuestas concienzudamente tras la manipulación. P280 - Llevar gafas/ máscara de protección. P337 + P313 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico. P210 - Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.
 Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant	Palabras de advertencia Advertencia Indicaciones de peligro H302 - Nocivo en caso de ingestión Contiene Poli(oxi-1,2-etanodiol), .alfa.-4[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]-omega.-hidroxi-

VIDA ÚTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad del sistema Para-Pak CON-Trate está indicada en la etiqueta del empaque exterior. Mantenga a 15-30 C. No congelar.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

A. RECOGIDA DE LA MUESTRA

- Se debe instruir y asistir adecuadamente al paciente acerca de la recogida de la muestra de materia fecal. Remítase a los prospectos del paquete Para-Pak, donde se describen la recogida y el transporte, o a las referencias correspondientes acerca de los métodos de recogida y transporte recomendados.
- Se puede utilizar el sistema CON-Trate con cualquier muestra preservada con formalina al 10%, SAF, o sin preservación alguna.

B. SEGURIDAD DE LA CALIDAD DE LA MUESTRA

Para asegurar una muestra clínica adecuada, utilizando el sistema CON-Trate, siga las siguientes recomendaciones:

- La mezcla muestra-preservante debe almacenarse por lo menos durante 30 minutos a partir de la recogida para asegurar su fijación adecuada. **IMPORTANTE:** Mezcle bien el contenido.
- La muestra debe haberse mantenido a temperatura ambiente.
- Debe haber una cantidad adecuada de muestra. Se recomienda 2 a 3 g. de materia fecal en 15 mL de fijador.

C. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

- Muestras sin preservar.** Para obtener resultados óptimos se recomienda fijar las muestras en el momento de su recogida. Las muestras que no fueron preservadas y transportadas inmediatamente pueden tener un valor diagnóstico limitado.^{1, 2, 7, 12}
 - Transfiera de 3 a 5 gramos de materia fecal no preservada en 15 mL del preservante de elección; para su economía y conveniencia utilice la Formalina Tamponada Neutra al 10% Meridian Para-Paz 10% Búferes Neutral Formalina, (Catálogo #900412), SAF (Catálogo #900212). Mezcle la mezcla muestra/preservante muy bien, disgregue cualquier masa fecal compacta, (siendo suficiente su agitación durante un minuto.) La mezcla muestra/preservante debe reposarse por lo menos durante 30 minutos para obtener la fijación adecuada. Siga las instrucciones descritas a continuación sobre el procedimiento para el preservante elegido.
- Procesamiento inmediato de las muestras no preservadas⁹**
 - Transfiera 5 a 6 gramos de materia fecal no preservada en 10 a 15 mL de solución salina fisiológica. Mezcle muy bien la mezcla materia fecal/solución salina, disgregando cualquier masa fecal.
 - Añada 4 gotas del Reactivo CON-Trate A a la mezcla. (hasta 8 gotas de Reactivo A pueden añadirse si la muestra es altamente mucoide.)
 - Tape y mezcle muy bien el contenido agitándolo.
 - Inserte uno de los dispositivos de filtración CON-Trate en la parte superior de los tubos desechables proporcionados.
 - Vierta la suspensión fecal en el tubo, pasando a través del dispositivo de filtración. Generalmente es suficiente con que ingresen 3 mL en el tubo, al menos que la suspensión fecal esté muy diluida.
 - Deseche el dispositivo de filtración, añada 10 mL de solución salina fisiológica y centrifugue a 500 xg durante 10 minutos (1800-2200 rpm). Decante el líquido sobrenadante, reteniendo el sedimento. Debe tener aproximadamente 1 mL de sedimento, del cual una porción debe utilizarse para la detección de *Cryptosporidium*. Consulte bibliografía adecuada para obtener información acerca de la preparación y examen. (Remítase a la indicación 6)
 - Vuelva a suspender el sedimento en 10 mL de formalina tamponada. Repose la muestra por lo menos durante 5 minutos antes de proceder. En este momento, puede taparse y guardarse el tubo con la mezcla para su utilización posterior.
 - Añada aproximadamente 3 mL de Reactivo CON-Trate B, tape el tubo y agite durante 30 segundos. Invierta el tubo mientras agita. **ATENCIÓN:** se puede crear una presión dentro del tubo durante la agitación. Libere la presión cuidadosamente, quitando el tapón del tubo hacia fuera y alejándolo de Ud.
 - Centrifugue el tubo a 500 xg durante 10 minutos (1800-2200 rpm). El examen del tubo luego de la centrifugación debe revelar la existencia de cuatro capas distintas, de arriba hacia abajo:
 - una capa que consiste en el Reactivo B
 - un "tapón" de detritos fecales
 - una capa acuosa descolorida
 - una capa de sedimento que contiene los parásitos
 El sedimento final restante debe de ser aproximadamente de 0,25 mL.
 - Sostenga el tubo verticalmente. Desprenda el tapón de detritos utilizando un aplicador de madera alrededor del mismo. Decante las capas superiores, dejando el sedimento. **NO COLOQUE EL TUBO VERTICALMENTE HASTA QUE SE HAYAN LIMPIADO LAS PAREDES LATERALES DEL TUBO CON HISOPOS CON PUNTA DE ALGODÓN.**
 - Transfiera una parte del sedimento en una lámina limpia y prepare el montaje de elección. Examine con el microscopio. Consulte bibliografía sobre la preparación examen adecuados.^{5, 7, 9}
- Muestras preservadas con formalina**
 - Añada 4 gotas del Reactivo CON-Trate A a la muestra contenida en el vial con el fijador. Si la muestra es altamente mucoide, (pueden añadirse hasta 8 gotas de Reactivo A.
 - Tape y mezcle el contenido agitándolo.
 - Inserte uno de los dispositivos de filtración CON-Trate en la parte superior de los tubos desechables proporcionados.
 - Vierta la suspensión fecal en el tubo, pasando a través del dispositivo de filtración. Generalmente es suficiente con que ingresen 3 mL en el tubo, al menos que la suspensión fecal esté muy diluida.
 - Deseche el dispositivo de filtración, añada 10 mL de solución salina fisiológica y centrifugue a 500 xg por 10 minutos (1800-2200 rpm). Decante el sobrenadante, reteniendo el sedimento. Una porción del sedimento debe utilizarse para la detección de *Cryptosporidium*. Consulte bibliografía adecuada para obtener información acerca de la preparación y el examen. (Remítase a la indicación 6)
 - Vuelva a suspender el sedimento en 9 mL de formalina al 10%.

- g. Añada aproximadamente 3 mL de Reactivo CON-Trate B, tape el tubo y agite durante 30 segundos. Invierta el tubo mientras agita. **ATENCIÓN:** se puede crear una presión dentro del tubo durante la agitación. Libere la presión cuidadosamente quitando el tapón del tubo hacia fuera, alejándolo de Ud.
 - h. Centrifugue el tubo a 500 xg durante 10 minutos (1800-2200 rpm). El examen del tubo luego de la centrifugación debe revelar la existencia de cuatro capas distintas, de arriba hacia abajo:
 1. una capa que consiste en el Reactivo B
 2. un "tapón" de detritos fecales
 3. una capa acuosa descolorida
 4. una capa de sedimento que contiene los parásitos
 El sedimento final restante debe de ser aproximadamente de 0,25 mL.
 - i. Sostenga el tubo verticalmente. Libere el tapón de detritos utilizando un aplicador de madera alrededor del mismo. Decante las capas superiores, dejando el sedimento. **NO COLOQUE EL TUBO VERTICALMENTE HASTA QUE NO SE HAYAN LIMPIADO LAS PAREDES LATERALES DEL TUBO CON HISOPOS CON PUNTA DE ALGODÓN.**
 - j. Transfiera una parte del sedimento a una lámina limpia y utilice el montaje de elección. Examine con el microscopio. Consulte bibliografía sobre la preparación y examen adecuados.^{5, 7, 9}
4. **Muestras preservadas con SAF**
- a. Añada 4 gotas del Reactivo CON-Trate A a la muestra contenida en el vial con el fijador. Si la muestra es altamente mucoide, (pueden añadirse hasta 8 gotas de Reactivo A.
 - b. Tape y mezcle muy bien el contenido agitando el vial varias veces.
 - c. Inserte uno de los dispositivos de filtración CON-Trate en la parte superior de los tubos desechables proporcionados.
 - d. Vierta la suspensión fecal en el tubo, pasando a través del dispositivo de filtración. Generalmente es suficiente con que ingresen 3 mL en el tubo, al menos que la suspensión fecal esté muy diluida.
 - e. Deseche el dispositivo de filtración, añada 10 mL de solución salina fisiológica y centrifugue a 500 xg durante 10 minutos (1800-2200 rpm). Decante el sobrenadante, reteniendo el sedimento. Una porción del sedimento debe utilizarse para la detección de *Cryptosporidium*. Consulte bibliografía adecuada para obtener información acerca de la preparación y el examen. (Remítase a la indicación 6)
 - f. Si se van a preparar tinciones permanentes:
 1. Transfiera una porción del sedimento a una gota de Albúmina de Mayer sobre una lámina.
 2. Mezcle bien y esparza la mezcla sobre una lámina limpia, obteniendo una película heterogénea: con zonas viscosas y diluidas. Debe dejarse secar y puede teñirse con una tinción permanente como por ejemplo: hematoxilina férrica o tinción tricrómica de Wheatley (Número de Catálogo 400101).²
 - g. Vuelva a suspender el sedimento en 9 mL de formalina al 10%.
 - h. Añada aproximadamente 3 mL de Reactivo CON-Trate B, tape el tubo y agite durante 30 segundos. Invierta el tubo mientras agita. **ATENCIÓN:** se puede crear una presión dentro del tubo durante la agitación. Libere la presión cuidadosamente quitando el tapón del tubo hacia fuera, alejándolo de Ud.
 - i. Centrifugue el tubo a 500 xg durante 10 minutos (1800-2200 rpm). El examen del tubo luego de la centrifugación debe revelar la existencia de cuatro capas distintas; de arriba hacia abajo:
 1. una capa que consiste en el Reactivo B
 2. un "tapón" de detritos fecales
 3. una capa acuosa descolorida
 4. una capa de sedimento que contiene los parásitos
 El sedimento final restante debe de ser aproximadamente de 0,25 mL.
 - j. Sostenga el tubo verticalmente. Libere el tapón de detritos utilizando un aplicador de madera alrededor del mismo. Decante las capas superiores, dejando el sedimento. **NO COLOQUE EL TUBO VERTICALMENTE HASTA QUE NO SE HAYAN LIMPIADO LAS PAREDES LATERALES DEL TUBO CON HISOPOS CON PUNTA DE ALGODÓN.**
 - k. Transfiera una parte del sedimento a una lámina limpia y utilice el montaje de elección. Examine con el microscopio. Consulte bibliografía sobre la preparación y examen adecuados.^{5, 7, 9}

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Cuando se utilizó el sistema Para-Pak CON-Trate Meridian en la evaluación clínica, tal como se indicó en la sección procedimiento, se vio que este sistema brinda resultados comparables/equivalentes/superiores al procedimiento de concentración por sedimentación que utiliza éter formalina (Ritchie).⁸

La fórmula de MucoPenx (Reactivo A) se ha diseñado para disgregar el moco presente en las muestras de materia fecal y no interfiere en los procedimientos de tinción ni altera la estructura de los parásitos.

INDICACIONES

La experiencia proveerá técnicas y volúmenes apropiados para asegurar la obtención del sedimento adecuado para el examen microscópico. La siguiente es una lista de indicaciones y sugerencias que facilitarán el logro de este objetivo.

1. **Volumen de suspensión fecal preservada a añadir a través del dispositivo de filtración:** Después de realizar la primera centrifugación es óptimo contar con un sedimento de 1,0 mL. En una suspensión fecal viscosa, con una proporción materia fecal-perseverante de 1:3 a 1:5, 3,0 mL de filtrado producen el volumen óptimo de sedimento. En suspensiones fecales menos viscosas, como uno ve en materia fecal muy diluida, se precisa un gran volumen de filtrado. En algunos casos se pueden precisar hasta 10,0-12,0 mL de filtrado. El indicio es que la viscosidad **decreciente** de la suspensión fecal preservada, produce un **incremento** proporcional en el volumen del filtrado. Si existe suficiente materia fecal en la suspensión fecal original y se ajusta cuidadosamente el volumen del filtrado, el volumen final de sedimento, luego de la concentración, debe ser de 0,25 mL en forma óptima. Obtendrá los resultados anticipados si presta atención a los detalles y a la experiencia
2. **No se debe forzar la suspensión fecal a través del dispositivo de filtración:** cuando se trabaja con suspensiones fecales muy viscosas, la velocidad de flujo a través del dispositivo de filtración es muy baja. No fuerce el material a través del dispositivo de filtración raspando con los aplicadores de madera o pasando soluciones acuosas. Tales acciones frecuentemente fuerzan material duro dentro del dispositivo de filtración. La presencia de estos materiales en preparaciones húmedas resulta en un flujo o distribución sin uniformidad debajo del cubreobjetos, dificultando la utilización de éste. El problema se minimiza añadiendo la cantidad de Reactivo A recomendada y mezclando muy bien la mezcla muestra/fijador. Material vegetal puede cubrir la malla del dispositivo de filtración. Éste puede quitarse pasando un aplicador de madera suavemente por el material, o golpeando suavemente el dispositivo lateralmente.
3. **Aplicación del hisopo en el tubo de centrifugación:** si no se aplica el hisopo sobre las paredes laterales del tubo luego de decantar el Reactivo B, el tapón de detritos y la capa acuosa, pueden hacer que se obtenga una preparación con humedad inadecuada. Si permite que el Reactivo B, el cual no es miscible en soluciones acuosas vuelva a entrar en contacto con el sedimento, obtendrá preparaciones húmedas, que no son uniformes debido a la presencia de Reactivo B.
4. **Sedimento:** Cuando se realiza correctamente el procedimiento CON-Trate, el sedimento tendrá un aspecto seco y poroso. Debe añadirse una gota de solución salina tanto en la lámina portaobjetos, como en la lámina cubreobjetos del sedimento para facilitar su lectura.
5. **La teoría de la preparación húmeda:** La tradición ha requerido que el examen microscópico directo se realice a partir de muestras de materia fecal recibidas por el laboratorio. Quizás, la misma tradición ha oscurecido el razonamiento que funda este requisito. El examen microscópico directo de muestras de materia fecal fresca, sin preservar, o material del tracto digestivo inferior, facilitó la identificación de protozoarios debido a la observación de la motilidad característica de los trofozoítos de los protozoarios. La práctica común de presentar al laboratorio muestras de materia fecal preservadas puede eliminar la necesidad del examen microscópico directo. La frecuencia de detección de parásitos puede aumentarse realizando el primer examen microscópico con el primer sedimento centrifugado, o tiñendo el sedimento a partir de una muestra preservada con SAF con la tinción tricrómica de Wheatley o con hematoxilina férrica.
6. **Preparación para el examen de *Cryptosporidium* cuando se utiliza Para-Pak:**
Para materia fecal diluida a acuosa:
 Luego de la filtración de la muestra, centrifúguela a 500 xg durante 10 minutos completos (1800-2200 para la mayoría de las centrifugas de mesa). Decante el sobrenadante. Debe quedarle aproximadamente de 0,5 a 1,0 mL de sedimento. Mezcle el sedimento y prepare un frotis para *Cryptosporidium*.
Para materia fecal semi-sólida o sólida:
 Realice todo el procedimiento de concentración y prepare una lámina a partir del sedimento según el protocolo de su laboratorio.

PARA-PAK® STUHLKONZENTRATIONSKIT **CON-Trate® System**

REF 960200

IVD

Rx Only

VERWENDUNGSZWECK

Das Meridian Para-Pak CON-Trate System ist ein vollständiges System zur Konzentration und Auffindung von Helmintheneiern, Larven und Protozoenzysten von Stuhlproben. Die Systeme sind einfach zu handhaben und können von Personen ohne Schulung in mikrobiologischen Verfahren angewendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TEST

Die korrekte Diagnose einer intestinalen parasitären Erkrankung hängt von der sachgemäßen Entnahme, Transport, Nachweis und Identifizierung von Parasiten in Stuhlproben ab.^{1, 2, 4, 5, 7, 9}

Nachweis und Identifizierung einer kleinen Anzahl von Helmintheneiern und Protozoenzysten in großen Stuhlmengen sind bei der Diagnose einer intestinalen parasitären Infektion von kritischer Bedeutung.

Herkömmlicherweise wurden Stuhlproben, die in 10% Formalin fixiert wurden, bei Konzentrationsverfahren zu Nachweis und Identifizierung von parasitischen Elementen eingesetzt.^{1, 2, 6, 9, 10, 12, 13} In der Forschung ist über den Gebrauch anderer Fixative, wie z.B. SAF,¹² berichtet worden. Das Meridian Para-Pak CON-Trate System kombiniert die bewährte Methodik mit aktuellen Fortschritten, die Nachweis und Identifizierung optimieren und die Probenpräparation in einer sicheren, standardisierten, leicht durchführbaren Weise auf ein Minimum beschränkt.⁸

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Das Meridian Para-Pak CON-Trate System verwendet effiziente, kostenbewusste Methoden zur Auffindung von Protozoenzysten, Helmintheneiern (darunter mit Operculum bedeckte Eier) und Larven in konservierten Stuhlproben.

1. Die Zugabe von CON-Trate Reagens A und die gründliche Mischung der konservierten Probe verbessert die Zersetzung der Fäkalaggregate und des Schleims und deckt die Parasiten auf diese Weise auf.⁸
2. Die Filterung der Suspension aus Stuhl und Reagens A durch die einzigartige CON-Trate Filterungsvorrichtung entfernt makroskopische Fäkalaggregate und Reststoffe.⁸
3. Durch Schütteln der Suspension aus Stuhl, Reagens A und Reagens B entsteht eine kolloidale Mischung. Zentrifugieren konzentriert die parasitischen Elemente in einer Sedimentschicht. Der Hauptteil der fäkalen Reststoffe wird in der Überstandsflüssigkeit beseitigt.
4. Wenn Ethyläther mit CON-Trate Reagens B im System ersetzt wird, ergibt dies eine gleichwertige oder bessere Auffindung von Parasiten.^{6, 11, 13} Das CON-Trate Reagens B ist weniger entzündlich als Ethyläther. Es ist keine Verzerrung oder Zerstörung parasitärer Elemente berichtet worden.^{6, 11, 13}

REAGENZIE/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Außenseite der Packung angegeben.

1. CON-Trate tubes (artikel #3810A)
2. CON-Trate Reagent A (artikel #9601-01)
3. Ethyl Acetate, Reagent B (artikel #4160-02)
4. Spin-Con Funnel and filter (artikel #3814A)
5. Caps for CON-Trate (artikel #3813)

BENOTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Applikatorstäbchen mit Wattespitzen
2. Mikroskop-Objektträger und Deckgläser
3. Physiologische Kochsalzlösung, 10% gepuffertes Formalin
4. Zentrifuge
5. Mikroskop
6. Pipetten

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. VORSICHT: CON-Trate Reagens B ist entzündlich. Führen Sie alle Verfahren in einer gut belüfteten Umgebung durch. Vermeiden Sie offene Flammen und Zündungsvorrichtungen. Vermeiden Sie Haut- und Augenkontakt. Vermeiden Sie das Einatmen der Dämpfe.
3. Befolgen Sie geeignete Labortechniken bei der Handhabung und Beseitigung aller als biologische Gefahrenstoffe zu betrachtenden klinischen Proben, Laborproben und Materialien.
4. Die Konzentration von Fäkalproben zur Untersuchung auf Parasiten ist nur ein integraler Teil des gesamten Schemas zur Identifizierung von intestinalen Parasiten. Zusätzliche Tests und Verfahren sind in den jeweiligen Literaturhinweisen zu finden.
5. Dieses Produkt darf nicht verwendet werden, falls:
 - a. das Haltbarkeitsdatum auf dem Etikett abgelaufen ist.
 - b. die sachgemäßen Lagerbedingungen nicht eingehalten wurden.
6. WICHTIG: Weitere Sicherheits- und Gefahrenhinweise sind im SDB enthalten.

Jeder schwerwiegende Vorfall, der in Verbindung mit dem Gerät aufgetreten ist, sollte Meridian Bioscience, Inc., 3471 River Hills Drive, Cincinnati, Ohio 45244 USA oder dem technischen Kundendienst unter 1 800.343.3858 und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem der Arzt und/oder der Patient ansässig ist, gemeldet werden.

 Ethyl Acetate / Reagent B	Signalwort Gefahr Enthält Essigsäureethylester Gefahrenhinweise H225 - Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar H315 - Verursacht Hautreizungen H319 - Verursacht schwere Augenreizung H336 - Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen EUH066 - Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen Sicherheitshinweise - Verordnung (EG) §28, Nr. 1272/2008 P321 - Besondere Behandlung (siehe section 4 auf diesem Kennzeichnungsetikett). P264 - Nach Gebrauch Gesicht, Hände und exponierte Haut gründlich waschen. P280 - Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P337 + P313 - Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. P210 - Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.
 Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant	Signalwort Warnung Gefahrenhinweise H302 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken Enthält Poly(oxy-1,2-ethandiy), .alpha.-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl) phenyl]-omega.-hydroxy

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Para-Pak CON-Trate Systems ist auf dem Etikett der äußeren Packung angegeben. Lagern Sie das Produkt bei 15-30 C. Nicht einfrieren.

PROBENNAHME UND-VORBEREITUNG

A. PROBENENTNAHME

- Der Patient muss sachgerechte Erläuterung und Hilfe bei der Entnahme der Probe erhalten. Empfohlene Entnahme- und Transportmethoden finden Sie in den jeweiligen Literaturhinweisen und den Packungsbeilagen der Meridian Para-Pak Entnahme/Transportkitprodukte.
- Alle Proben, die in 10% Formalin, SAF, oder konserviert sind und alle unkonservierten Stuhlproben können mit dem CON-Trate System verwendet werden.

B. QUALITÄTSSICHERUNG DER PROBEN

Um eine angemessene klinische Probe für das CON-Trate System zu gewährleisten, beachten Sie die folgenden Punkte:

- Die Mischung aus Probe und Konservierungsmittel muss mindestens 30 Minuten lang nach der Entnahme aufbewahrt werden, um eine angemessene Fixierung zu gewährleisten. WICHTIG: Mischen Sie den Inhalt gründlich.
- Die Probe muss bei Raumtemperatur gehalten werden.
- Eine adäquate Stichprobe muss zur Verfügung stehen. 2 g bis 3 g Stuhl in 15 mL Fixativ ist empfohlen.

C. VERARBEITUNG DER PROBEN

- Unkonservierte Stuhlproben** (für optimale Leistung wird empfohlen, dass die Proben zum Zeitpunkt der Entnahme konserviert werden. Unkonservierte Proben, deren Verarbeitung aufgrund des Transports verzögert wurde, können ihren diagnostischen Wert u.U. verloren haben.^{1, 2, 7, 12})
 - Geben Sie 3 bis 5 g unkonservierten Stuhl in 15 mL Konservierungsmittel Ihrer Wahl. Aus Gründen der Kostengünstigkeit und Unkompliziertheit verwenden Sie Meridian Para-Pak 10% Gepuffertes neutrales Formalin (Katalognr. 900412), SAF (Katalognr. 900212). Mischen Sie die Mischung aus Stuhl und Konservierungsmittel gründlich und zerkleinern Sie Klumpen oder Fäkalmassen (normalerweise ist es ausreichend, die Mischung eine Minute lang zu schütteln). Die Mischung aus Stuhl und Konservierungsmittel sollte mindestens 30 Minuten lang stehen gelassen werden, um eine adäquate Fixierung zu erreichen. Befolgen Sie die Anwendungsverfahren im Folgenden für den jeweils gewählten Konservierungsmittel.
- Unmittelbare Verarbeitung unkonservierter Stuhlproben⁹**
 - Geben Sie 5 g bis 6 g unkonservierten Stuhl in 10 mL bis 15 mL a physiologische Kochsalzlösung.
 - Mischen Sie die Mischung aus Stuhl und Kochsalzlösung gründlich und zerkleinern Sie Klumpen oder Fäkalmassen.
 - Geben Sie 4 Tropfen CON-Trate Reagents A zur Mischung im Fixativfläschchen (bis zu 8 Tropfen Reagents A können zugegeben werden, wenn die Probe hochgradig mukos ist).
 - Verschließen Sie das Reagenzglas und mischen Sie den Inhalt durch Schütteln gründlich.
 - Schieben Sie eine CON-Trate Filterungsvorrichtungen oben auf eine der mitgelieferten Einmal-Zentrifugenröhrchen.
 - Gießen Sie die Fäkalsuspension durch die Filterungsvorrichtung in das Zentrifugenröhrchen. Im Allgemeinen sind 3 mL im Zentrifugenröhrchen ausreichend, außer wenn die Fäkalsuspension dünn ist.
 - Verwerfen Sie die Filterungsvorrichtung, geben Sie 10 mL physiologische Kochsalzlösung hinzu und zentrifugieren Sie die Suspension 10 Minuten lang bei 500 xg (1800 bis 2200 Umdrehungen pro Minute). Dekantieren Sie die Überstandsflüssigkeit und halten Sie das Sediment zurück. Es sollte ungefähr 1 mL Sediment vorhanden sein. Ein Teil des Sediments kann zum Nachweis von *Cryptosporidium* verwendet werden. Zur sachgerechten Präparation und Untersuchung wird auf einen diesbezüglichen Literaturhinweis verwiesen (siehe Hinweis 6).
 - Resuspendieren Sie das Sediment in 10 mL gepuffertem Formalin. Lassen Sie die Mischung mindestens 5 Minuten vor der weiteren Bearbeitung stehen. (An dieser Stelle kann die Mischung im Zentrifugenröhrchen verschlossen und bis zu einem späteren Zeitpunkt aufbewahrt werden.)
 - Geben Sie ungefähr 3 mL CON-Trate Reagents B hinzu, verschließen Sie das Röhrchen und schütteln Sie es 30 Sekunden lang. Drehen Sie das Röhrchen beim Schütteln auf den Kopf. **VORSICHT:** Es kann beim Schütteln zu einer Druckentwicklung im Röhrchen kommen. Lassen Sie den Druck vorsichtig ab, indem Sie die Kappe des Zentrifugenröhrchens von sich wegheben und öffnen.
 - Zentrifugieren Sie das Röhrchen 10 Minuten lang bei 500 xg (1800 bis 2200 Umdrehungen pro Minute). Die Untersuchung des Röhrchens nach dem Zentrifugieren sollte vier bis fünf abgegrenzte Schichten von oben nach unten ergeben:
 - eine Schicht, die aus Reagents B besteht
 - eine "Pfropf" aus Fäkalreststoffen
 - eine verfärbte wässrige Schicht
 - eine Sedimentschicht, die Parasiten enthält
 Das endgültige Sediment sollte ungefähr 0,25 mL ergeben.
 - Halten Sie das Röhrchen vertikal. Lösen Sie den Reststoff-Pfropf mit einem hölzernen Applikatorstäbchen. Dekantieren Sie die oberen Schichten und halten Sie das Sediment zurück. **HALTEN SIE DAS RÖHRCHEN ERST DANN WIEDER IN AUFRECHTER STELLUNG, WENN DIE SEITENWÄNDE DES RÖHRCHENS MIT WATTETUPFERN GESÄUBERT WORDEN SIND.**
 - Transferieren Sie einen Teil des Sediments auf einen gläsernen Objektträger und präparieren Sie eine Einbettung Ihrer Wahl. Untersuchen Sie das Präparat mikroskopisch. Für sachgerechte Präparation und Untersuchung wird auf diesbezügliche Literaturhinweise verwiesen.^{5, 7, 9}
- Formalinkonservierte Proben**
 - Geben Sie 4 Tropfen CON-Trate Reagents A zur Mischung im Fixativfläschchen (Bis zu 8 Tropfen Reagents A können zugegeben werden, wenn die Probe hochgradig mukos ist).
 - Verschließen Sie das Reagenzglas und mischen Sie den Inhalt gründlich durch Schütteln.
 - Schieben Sie eine CON-Trate Filterungsvorrichtungen oben auf eine der mitgelieferten Einmal-Zentrifugenröhrchen.
 - Gießen Sie die Fäkalsuspension durch die Filterungsvorrichtung in das Zentrifugenröhrchen. Im Allgemeinen sind 3 mL im Zentrifugenröhrchen ausreichend, außer wenn die Fäkalsuspension dünn ist.

- e. Verwerfen Sie die Filterungsvorrichtung, geben Sie 10 mL physiologische Kochsalzlösung hinzu und zentrifugieren Sie die Suspension 10 Minuten lang bei 500 xg (1800 bis 2200 Umdrehungen pro Minute). Dekantieren Sie die Überstandsflüssigkeit und halten Sie das Sediment zurück. Ein Teil des Sediments kann zum Nachweis von *Cryptosporidium* verwendet werden. Zur sachgerechten Präparation und Untersuchung wird auf einen diesbezüglichen Literaturhinweis verwiesen (siehe Hinweis 6).
 - f. Resuspendieren Sie das Sediment in 9 mL 10% Formalin.
 - g. Geben Sie ungefähr 3 mL CON-Trate Reagens B hinzu, verschließen Sie das Röhrchen und schütteln Sie es 30 Sekunden lang. Drehen Sie das Röhrchen beim Schütteln auf den Kopf. **VORSICHT:** Es kann beim Schütteln zu einer Druckentwicklung im Röhrchen kommen. Lassen Sie den Druck vorsichtig ab, indem Sie die Kappe des Zentrifugenröhrchens von sich weghalten und öffnen.
 - h. Zentrifugieren Sie das Röhrchen 10 Minuten lang bei 500 xg (1800 bis 2200 Umdrehungen pro Minute). Die Untersuchung des Röhrchens nach dem Zentrifugieren sollte vier von einander abgegrenzte Schichten von oben nach unten ergeben:
 1. eine Schicht, die aus Reagens B besteht
 2. eine "Pfropf" aus Fäkalreststoffen
 3. eine verfärbte wässrige Schicht
 4. eine Sedimentschicht, die Parasiten enthält.
 Das endgültige Sediment sollte ungefähr 0,25 mL ergeben.
 - i. Halten Sie das Röhrchen vertikal. Lösen Sie den Reststoff-Pfropf mit einem hölzernen Applikatorstäbchen. Dekantieren Sie die oberen Schichten und halten Sie das Sediment zurück. **HALTEN SIE DAS RÖHRCHEN ERST DANN WIEDER IN AUFRICHTER STELLUNG, WENN DIE SEITENWÄNDE DES RÖHRCHENS MIT WATTETUPFERN GESÄUBERT WORDEN SIND.**
 - j. Transferieren Sie einen Teil des Sediments auf einen gläsernen Objektträger und präparieren Sie eine Einbettung Ihrer Wahl. Untersuchen Sie das Präparat mikroskopisch. Für sachgerechte Präparation und Untersuchung wird auf diesbezügliche Literaturhinweise verwiesen.^{5, 7, 9}
- 4. SAF-konservierte Proben**
- a. Geben Sie 4 Tropfen CON-Trate Reagens A zur Mischung im Fixativfläschchen (Bis zu 8 Tropfen Reagens A können zugegeben werden, wenn die Probe hochgradig mukos ist).
 - b. Verschließen Sie das Reagenzglas und mischen Sie den Inhalt gründlich durch mehrfaches Schütteln des Fläschchens.
 - c. Schieben Sie eine CON-Trate Filterungsvorrichtungen oben auf eine der mitgelieferten Einmal-Zentrifugenröhrchen.
 - d. Gießen Sie die Fäkalsuspension durch die Filterungsvorrichtung in das Zentrifugenröhrchen. Im Allgemeinen sind 3 mL im Zentrifugenröhrchen ausreichend, außer wenn die Fäkalsuspension dünn ist.
 - e. Verwerfen Sie die Filterungsvorrichtung, geben Sie 10 mL physiologische Kochsalzlösung hinzu und zentrifugieren Sie die Suspension 10 Minuten lang bei 500 xg (1800 bis 2200 Umdrehungen pro Minute). Dekantieren Sie die Überstandsflüssigkeit und halten Sie das Sediment zurück. Ein Teil des Sediments kann zum Nachweis von *Cryptosporidium* verwendet werden. Zur sachgerechten Präparation und Untersuchung wird auf einen diesbezüglichen Literaturhinweis verwiesen (siehe Hinweis 6).
 - f. Wenn eine permanente Ausstrichfärbung präpariert werden soll:
 1. Transferieren Sie etwas Sediment zu einem Tropfen Mayers Albumin auf einen Objektträger.
 2. Mischen Sie die Mischung gründlich und streichen Sie auf einem sauberen Objektträger zu einem unebenen Film aus (dünnere und dickere Felder). Dieser Ausstrich sollte getrocknet werden und kann dann mit einem permanenten Farbstoff wie Eisenhämatoxylin oder Wheatleys Trichrom (Katalognr. 400101) gefärbt werden.²
 - g. Resuspendieren Sie das Sediment in 9 mL 10% Formalin.
 - h. Geben Sie ungefähr 3 mL CON-Trate Reagens B hinzu, verschließen Sie das Röhrchen und schütteln Sie es 30 Sekunden lang. Drehen Sie das Röhrchen beim Schütteln auf den Kopf. **VORSICHT:** Es kann beim Schütteln zu einer Druckentwicklung im Röhrchen kommen. Lassen Sie den Druck vorsichtig ab, indem Sie die Kappe des Zentrifugenröhrchens von sich weghalten und öffnen.
 - i. Zentrifugieren Sie das Röhrchen 10 Minuten lang bei 500 xg (1800 bis 2200 Umdrehungen pro Minute). Die Untersuchung des Röhrchens nach dem Zentrifugieren sollte vier von einander abgegrenzte Schichten von oben nach unten ergeben:
 1. eine Schicht, die aus Reagens B besteht
 2. ein "Pfropf" aus Fäkalreststoffen
 3. eine verfärbte wässrige Schicht
 4. eine Sedimentschicht, die Parasiten enthält
 Das endgültige Sediment sollte ungefähr 0,25 mL ergeben.
 - j. Halten Sie das Röhrchen vertikal. Lösen Sie den Reststoff-Pfropf mit einem hölzernen Applikatorstäbchen. Dekantieren Sie die oberen Schichten und halten Sie das Sediment zurück. **HALTEN SIE DAS RÖHRCHEN ERST DANN WIEDER IN AUFRICHTER STELLUNG, WENN DIE SEITENWÄNDE DES RÖHRCHENS MIT WATTETUPFERN GESÄUBERT WORDEN SIND.**
 - k. Transferieren Sie einen Teil des Sediments auf einen gläsernen Objektträger und präparieren Sie eine Einbettung Ihrer Wahl. Untersuchen Sie das Präparat mikroskopisch. Für sachgerechte Präparation und Untersuchung wird auf diesbezügliche Literaturhinweise verwiesen.^{5, 7, 9}

LEISTUNGSMERKMALE

Wenn das Meridian Para-Pak CON-Trate System wie in den Anleitungenanweisungen angegeben verwendet wurde, erwies sich, dass es während einer klinischen Bewertung im Hinblick auf das Standard-Sedimentkonzentrationsverfahren mit Ritchie-Formalinäther (Ethylazetat) vergleichbare/äquivalente/bessere Ergebnisse⁸ erbrachte.

MucoPenX (Reagens A) ist so formuliert, dass es den in den Stuhlproben vorhandenen Schleim zersetzt und nicht mit den Färbungsverfahren interferiert oder die Verzerrung von Parasiten bewirkt.

HINWEISE

Die Erfahrung wird zeigen, welche angemessene Techniken und Volumina zu verwenden sind, die ein adäquates Sediment zur mikroskopischen Untersuchung gewährleisten. Die folgende Liste zeigt Hinweise und Vorschläge auf, die dieses Ziel erreichen:

1. **Das Volumen der konservierten Fäkalsuspension, die durch die Filterungsvorrichtung zugegeben wird:** Nach der ersten Zentrifugierung ist ein Sediment von 1,0 mL optimal. In einer dichten Fäkalsuspension mit einem Verhältnis von Stuhl zu Konservierungsmittel von 1:3 bis 1:5 erbringen 3,0 mL Filtrat ein optimales Sedimentvolumen. In weniger dichten Fäkalsuspensionen, wie sie etwa in wässrigem Stuhl auftreten, sind größere Volumina an Filtrat notwendig. In einigen Fällen sind u.U. bis zu 100 mL bis 12,0 mL Filtrat nötig. Es wird darauf hingewiesen, dass eine verminderte Dichte der konservierten Fäkalsuspension einen proportionalen Anstieg im Filtratvolumen zur Folge haben muss. Wenn in der ursprünglichen Fäkalsuspension ausreichend Fäkalmaterial vorhanden war und bei der Angleichung des Filtratvolumens mit Vorsicht umgegangen wird, sollte das endgültige Sedimentvolumen nach der Konzentration optimalerweise 0,25 mL betragen. Beachtung der Details und Erfahrung werden die erwarteten Ergebnisse erbringen.
2. **Die Fäkalsuspension sollte nicht gewaltsam durch die Filtervorrichtung gezwungen werden:** Bei sehr dichten Fäkalsuspensionen geht der Durchsatz durch die Filtervorrichtung langsam vonstatten. Zwingen Sie das Material nicht durch den Filter, indem Sie ihn mit einem Applikatorstäbchen schaben oder die wässrige Lösung waschen. Dadurch wird hartes, körniges Material oft durch die Filtervorrichtung gezwungen. Wenn ein derartiges Material bei nassen Einbettungspräparaten vorhanden ist, hat dies einen uneinheitlichen Fluss oder ungleichmäßige Verteilung des Materials unter dem Deckglas zur Folge, wodurch die Abdeckung mit einem Deckglas erschwert wird. Das Problem wird durch die Zugabe der empfohlenen Menge Reagens A und durch die gründliche Mischung von Probe und Fixativ vermindert. Vegetatives Material, das Sieb der Filtervorrichtung bedecken kann, kann entfernt werden, indem man ein Applikatorstäbchen vorsichtig durch das Material führt oder an die Seite der Filtervorrichtung klopft.
3. **Säuberung des Zentrifugenröhrchens mit einem Wattestäbchen:** Wenn die Seitenwände des Zentrifugenröhrchens nach dem Dekantieren von Reagens B, dem Fäkalreststoffpfropf und der wässrigen Schicht nicht mit einem Wattestäbchen gesäubert werden, kann dies zu einer schlechten nassen Einbettungspräparation führen. Wenn Reagens B, das in wässrigen Lösungen nicht mischbar ist, in das Sediment zurückläuft, bewirkt dies eine nasse Einbettungspräparation, die aufgrund des vorhandenen Reagens B nicht einheitlich ist.
4. **Sediment:** Wenn das CON-Trate Verfahren sachgemäß befolgt wird, hat das Sediment ein trockenes, körniges Aussehen. Um das Ablesen zu vereinfachen, sollte eine Tropfen Kochsalzlösung zu dem Sediment auf dem Objektträger gegeben werden und das Deckglas sollte anschließend auf dem Präparat schwimmend aufgelegt werden.
5. **Nasspräparat-Theorie:** Traditionsgemäß wird eine direkte mikroskopische Untersuchung bei dem Labor zugesandten Stuhlproben vorgenommen. Das traditionelle Vorgehen hat möglicherweise den Beweggrund für diese Notwendigkeit verschleiert. Die direkte mikroskopische Untersuchung von frischen, nicht konservierten Stuhlproben oder Stuhlmaterial vereinfachte die Identifizierung von Protozoen, indem die charakteristischen Bewegungen der protozoischen Trophozoiten beobachtet wurden. Die herkömmliche Praxis der Abgabe von konservierten Stuhlproben zum Labor kann den Bedarf der direkten mikroskopischen Untersuchung u.U. eliminieren. Die Nachweisrate von Parasiten kann durch die Durchführung der ersten mikroskopischen Untersuchung anhand des ersten zentrifugierten Sediments oder durch die Färbung des Sediments von einem SAF-konservierten Stuhlproben mit Wheatleys Trichrom oder Eisenhämatoxylin verbessert werden.
6. ***Cryptosporidium*-Präparation mittels Para-Pak:**
Bei weichen oder wässrigen Stuhlproben:
 Nach der Filtration der Probe zentrifugieren Sie die Probe bei 500 xg ganze 10 Minuten lang (1800 bis 2200 Umdrehungen pro Minute im Falle der meisten Tischzentrifugen). Dekantieren Sie die Überstandsflüssigkeit. Es sollte ungefähr 0,5 mL bis 1,0 mL Sediment zurückbleiben.
 Mischen Sie das Sediment und präparieren Sie einen Ausstrich für *Cryptosporidium*.
Bei halbfesten oder festen Stuhlproben:
 Führen Sie das gesamte Konzentrationsverfahren durch und präparieren Sie nach dem Laborprotokoll einen Objektträger mit dem Sediment.

REFERENCES

1. ASMT. Recommended procedures for the examination of clinical specimens submitted for the diagnosis of parasitic infections. Am J Med Technol 1978;44:1101-1106.
2. American Society of Parasitologists. Procedures suggested for use in examination of clinical specimens for parasitic infection. J Parasitol 1977;63:959-960.
3. Blagg W et.al. A new concentration technique for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. Am. Journ. Trop. Med. and Hyg. 4:23-28. 1955
4. Brook MM. Intestinal and urogenital protozoa. Manual of Clinical Microbiology. ASM Washington DC, 2nd ed. 582-601. 1974
5. Burrows RB. Microscopic diagnosis of the parasites of men. New Haven: Yale University Press;1905
6. 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.
7. Garcia LS, Voge M. Diagnostic clinical parasitology: I. proper specimen collection and processing. Am J Med Technol 1980;46:459-467.
8. Long EG, Tsiftis AT, Robinson A. Comparison of the FeKal CON-Trate® System with the formalin-ethyl acetate technique for detection of intestinal parasites. J Clin Microbiol 1985;22:210-211.
9. Melvin DM, Brooke MM. Laboratory procedures for the diagnosis of intestinal parasites. Atlanta, GA: US DHEW CDC 1980;80:8282
10. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bull, U.S. Army Med. Dept. 8:326.
11. Saper, James J, Lawless DK C.P.A. Strome. 1951. An Improved Iodine - staining Technique for Routine Laboratory Diagnosis of Intestinal Protozoa. Science. 1948.114:550-551.
12. Scholten JL Whitby. Comparison of ethyl-acetate and Diethyl Ether in the Formalin Ether Concentration Method Based on Proficiency Test Samples. Presented at the 54th Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Disease, Quebec, Canada. 1986.
13. 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.
14. Young KH, Bullock S, Melvin DM, Sprull CL. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the ether formalin sedimentation technique. J Clin Microbiol 1979;10:852-853.
15. Data On File



SN10650

REV. 08/24

 Manufactured By	Meridian Bioscience, Inc. 3471 River Hills Drive Cincinnati, OHIO - 45244 USA www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+1) 513.271.3700 Customer Service/Orders 800.543.1980 Technical Support Center 800.343.3858 Information Fax: 513.272.5432 Ordering Fax: 513.271.0124 E-mail: info@meridianbioscience.com
EC REP	Meridian Bioscience Europe, SRL Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese (Milano) ITALY www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+39) 0331.433636 E-mail: info@meridianbioscience.eu Technical Support: MBE-TechService@meridianbioscience.eu Customer Service/Orders: - For Italian Customers: ordini@meridianbioscience.com - For Distributors / International Customers: Export.CustomerService@meridianbioscience.eu
UK Authorised Representative	Launch Diagnostics Ash House Ash Road Longfield DA3 8JD UK
CH REP	MedEnvoy Switzerland Gotthardstrasse 28 6302 Zug Switzerland

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfill the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on In-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recanti il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfano i requisiti della Direttiva 98/79/CE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 98/79/CE ou du Règlement 2017/746 relatifs aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan la marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 98/79/CE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 98/79/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	SMP PREP DIL SPE 	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenzubereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNING: Risikogefahr
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Numero de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
Rx Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use si el paquete está dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	TUBE	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	CH REP	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.