

Para-Pak® TRICHROME BLUE

REF 400501

IVD

Rx Only

INTENDED USE

Trichrome Blue is a stain which provides excellent differentiation of microsporidium spores in fresh and preserved stool, urine sediment, nasopharyngeal aspirates and other body fluids.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Microsporidia are obligate intracellular spore-forming protozoa belonging to the phylum Microspora. Species from five genera: *Nosema*, *Encephalitozoon*, *Pleistophora*, *Septata*, and *Enterocytozoon* have been implicated as disease-causing parasites in humans, especially in immunocompromised individuals such as AIDS patients.¹⁻³

Definitive diagnosis has been impeded by the difficulty of detecting these protozoa. In 1992, Weber et.al.⁴ described a procedure using a modified Trichrome stain for the staining of Microsporidia from formalin-fixed stool and duodenal aspirates. While the Weber stain constituted a significant improvement, the general lack of background color makes the screening of large number of slides very difficult and time-consuming.

Ryan et.al. (1993) further modified the Trichrome stain, substituting the fast green in the Weber stain with aniline blue.⁵ The last modification stained the background material a deep blue color, which nicely contrasted with the pinkish-red stained microsporidia. Detailed internal structure can also be seen using this stain. Therefore, this method opens up a practical means for routine screening of microsporidia in fresh and preserved stools, urine sediments, induced sputum and nasopharyngeal aspirates.⁵ It has also been found that the increase of staining temperature can improve intensity and shorten time of staining.⁶

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

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

1. Chromotrope 2R
2. Aniline Blue
3. Phosphotungstic Acid
4. Glacial Acetic Acid
5. Deionized H₂O

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Positive and Negative Controls
2. 10% Formalin, collection containers
3. Glass slides, coverslips
4. Staining containers, stain rack
5. Absolute Methanol
6. Acid Alcohol (0.45% acetic acid in 90% Ethanol)
7. 95% Ethanol
8. HEMO-DE (Xylene substitute)
9. Mounting medium
10. Microscope (100X oil immersion objective)

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. The reagents may cause irritation to skin, eyes, and respiratory tract. Avoid breathing vapor and eye/skin contact.
3. Every specimen represents a potential source of infectious material and should be handled accordingly.
4. Never return used stain to the original bottle. Discard appropriately after use.

HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

 Trichrome Blue	Signal word Danger Hazard statements H314 - Causes severe skin burns and eye damage H332 - Harmful if inhaled H412 - Harmful to aquatic life with long lasting effects Precautionary Statements - EU (S28, 1272/2008) P280 - Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection P260 - Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray P303 + P361 + P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/ Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower P280 - Wear eye protection/ face protection P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/ physician
---	---

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of the Trichrome-blue stain is indicated on the kit label. Store at 15-30 C. Excessive heat and cold should be avoided.

TEST PROCEDURE

A. Specimen Preparation

Stool specimens preserved in 10% formalin, 5% formalin, or sodium acetate-acetic acid formalin (SAF) may be used. The preservative-stool mixture must be allowed to stand for a minimum of 30 minutes at room temperature to ensure adequate fixation. Urine specimens can be sedimented by centrifugation at 15,000 xg for 30 seconds or 400 xg for 10 minutes.³ Then resuspend in 10% buffered formalin at one-tenth (1/10) of the original volume. For best results, 2-3 mL of preserved stool specimens may be concentrated prior to processing using the formalin-ethyl acetate sedimentation procedure (centrifuge concentrate for 10 minutes at 500 xg).⁷ Specimens should be handled according to established guidelines.^{8,9}

B. Slide Preparation

1. With a calibrated loop or pipet, place 10 µL of the fixed stool concentrate onto a glass slide.
2. Spread thinly over an area approximately 45 by 25 mm.
3. Allow slides to dry completely (usually room temperature overnight or 37 C for two hours).
4. Fix smears in methanol for five minutes and allow to air dry.

C. Staining

- 1a. Heat Trichrome-blue stain* by placing in a 37 C incubator for at least one hour. Then add slides to stain for 30 minutes at 37 C. (Recommended procedure)
- OR
- 1b. Trichrome-blue stain can be used at room temperature. Place slides in stain for 90 minutes.

Note: All subsequent dehydration steps (2-6) should be carried out at room temperature.

2. Rinse with acid alcohol for 10 seconds.
3. Rinse with 95% ethanol for 10 seconds.
4. Dehydrate twice in 95% ethanol or five minutes each.
5. Dehydrate in HEMO-DE cleaning agent for five minutes.
6. Mount with Permout, then coverslip.**

*Hand-shake the Trichrome-blue stain well before dispensing. If precipitates are noticeable, filter before use.

**If permanent record is desired, avoid exposure to light.

INTERPRETATION OF RESULTS

Microsporidia: Spore size approximately 1.5 X 0.9 µm (as large as 3.5 X 2.0 µm for Septata). Spores display a characteristic refractile ovoid shape with a clear vacuole-like zone. The spore wall stains a bright pinkish-red, while the spore contents remain either transparent or demonstrate a pinkish-red belt-like stripe.

Yeasts: Larger and more variable in size. Stain reddish or light blue and more uniformly; sometimes show budding.

Other parasites may stain gray to dark blue. Background material and artifacts will stain blue.

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

A. **Positive and Negative Control**

Microsporidium positive and negative control samples or QC slides should accompany each run. Criteria of acceptance is the same as in "Interpretation of Results".

B. **Quality of the reagents should be evaluated each time a patient's specimen is tested.**

1. All staining dishes should be covered to prevent evaporation of reagents.
2. Depending on the volume of slides stained, reagents will need to be changed on an as-needed basis (for example, after 30 slides).
3. The purpose of the first alcohol rinse after decolorizing is to halt decolorization. Since carryover of the acid alcohol will occur, change this solution frequently.

If the expected control reactions are not observed, repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.

BUT DE LA METHODE

Para-Pak Trichrome Blue (Bleu) est un colorant qui permet d'obtenir une excellente différenciation des spores de microsporidies dans les échantillons de selles fraîches ou fixées, les sédiments urinaires, les aspirations naso-pharyngées et d'autres fluides corporels.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Les microsporidies sont des protozoaires intracellulaires obligatoires qui forment des spores, appartenant à l'embranchement Microspora. Des espèces de cinq genres: *Nosema*, *Encephalitozoon*, *Pleistophora*, *Septata*, et *Enterocytozoon* ont été impliquées comme parasites responsables de maladies chez les humains, en particulier chez les personnes immunodéprimées, dont les patients porteurs de HIV.¹⁻³

Le diagnostic définitif a souvent été limité par la difficulté à détecter ces protozoaires. En 1992, Weber *et al.*⁴ ont décrit une procédure de coloration Trichrome modifiée pour la coloration des microsporidies, sur les échantillons de selles fixées dans le formol, et les aspirations duodénales. Alors que la coloration de Weber constitue une amélioration notable, le manque général de couleur de fond rend l'observation d'un grand nombre de lames longue et difficile.

Ryan *et al.* (1993) ont par la suite modifié la procédure de coloration Trichrome, en remplaçant le colorant vert rapide par le bleu aniline.⁵ Cette modification permet de colorer le matériel de fond en bleu foncé, qui contraste alors nettement avec les microsporidies colorées en rouge rosé. Des structures internes détaillées peuvent également être observées avec cette coloration. Cette méthode donne donc un moyen de détection des microsporidies en routine dans les selles fraîches et fixées, les sédiments urinaires, les expectorations, et les produits d'aspiration naso-pharyngée.⁵ Il a également été montré que l'augmentation de la température peut diminuer le temps nécessaire à la coloration, et en améliorer l'intensité.⁶

MATERIEL FOURNI

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

1. Chromotrope 2R
2. Bleu aniline
3. Acide phosphotungstique
4. Acide acétique glacial
5. Eau désionisée

MATERIEL NON FOURNI

1. Contrôles positif et négatif
2. Formol 10%, flacons de prélèvement
3. Lames en verre, lamelles couvre-objet
4. Récipients de coloration, support de lame
5. Méthanol absolu
6. Alcool-acide (acide acétique 0,45% dans éthanol 90%)
7. Ethanol 95%
8. Hemo-De (substitut du xylène)
9. Milieu de montage
10. Microscope (objectif à immersion dans l'huile 100X)

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Les réactifs peuvent provoquer des irritations à la peau, aux yeux, et au système respiratoire. Éviter de respirer les vapeurs, et les contacts avec les yeux/la peau.
3. Les échantillons des patients peuvent contenir du VIH ou d'autres agents infectieux. Ils devront être manipulés par un personnel correctement entraîné, et éliminés comme du matériel potentiellement infectieux. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons et pendant la réalisation du test.
4. Ne jamais remettre le colorant utilisé dans la bouteille d'origine. L'éliminer de façon appropriée après emploi.

DANGER ET MISES EN GARDE

 Trichrome Blue	Mention d'avertissement DANGER Mentions de danger H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves H332 - Nocif par inhalation H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme Conseils de prudence - UE (par 28, 1272/2008) P280 - Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage. P260 - Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols P303 + P361 + P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/ se doucher. P280 - Porter un équipement de protection des yeux/du visage P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin
---	---

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration du colorant Trichrome Bleu est indiquée sur l'étiquette. Conserver à 15-30 C. Une chaleur et un froid excessifs doivent être évités.

PROCEDURE DE TEST

A. Recueil des échantillons

Les échantillons de selles fixées dans le formol 10%, dans le formol 5%, ou dans le mélange acétate de sodium/acide acétique/formol (SAF) peuvent être utilisés. Le mélange selles – fixateur doit être laissé à température ambiante pendant 30 minutes au minimum, pour assurer une fixation adéquate. Les échantillons urinaires peuvent être sédimentés par centrifugation à 15000 xg pendant 30 secondes, ou à 400 xg pendant 10 minutes.³ Ils sont ensuite remis en suspension dans du formol 10% tamponné, au dixième (1/10) du volume original.

Pour de meilleurs résultats, 2-3 mL d'échantillon de selles fixées peuvent être concentrés avant la procédure de coloration, en utilisant la technique de sédimentation formol/acétate d'éthyle (concentrer par centrifugation pendant 10 minutes à 500 xg).⁷

Les échantillons doivent être manipulés selon les procédures établies.^{8, 9}

B. Préparation des lames

1. Avec une pipette ou une boucle, déposer 10 µL de l'échantillon de selles fixées et éventuellement concentrées sur la lame de verre.
2. Faire un étalement fin sur une surface d'environ 45 x 25 mm.
3. Laisser les lames sécher complètement (habituellement à température ambiante sur la nuit, ou à 37 C pendant deux heures).
4. Fixer le frottis dans le méthanol pendant cinq minutes, et laisser sécher à l'air libre.

C. Coloration

- 1a. Faire chauffer le colorant Trichrome Bleu* en le plaçant dans un incubateur à 37 C pendant une heure au minimum. Déposer ensuite les lames dans le colorant, et les laisser colorer pendant 30 minutes à 37 C (procédure recommandée).

OU

- 1b. Le colorant Trichrome Bleu peut être utilisé à température ambiante. Dans ce cas, les lames doivent être laissées dans le colorant pendant 90 minutes.

Remarque: Toutes les étapes de déshydratation suivantes (2-6) doivent être réalisées à température ambiante.

2. Rincer les lames avec l'alcool-acide pendant 10 secondes.
3. Rincer les lames avec l'éthanol 95% pendant 10 secondes.
4. Déshydrater deux fois dans l'éthanol 95%, pendant cinq minutes à chaque fois.
5. Déshydrater dans l'agent nettoyant Hemo-De pendant cinq minutes.
6. Recouvrir de milieu de montage, et ajouter une lamelle couvre-objet**.

*Bien mélanger le flacon de colorant Trichrome Bleu avant d'en verser une partie dans le récipient de coloration. Si des précipités sont visibles, filtrer avant l'utilisation.

**Si les lames doivent être conservées de manière permanente, éviter de les exposer à la lumière.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Microsporidies: La taille des spores est d'environ 1,5 x 0,9 µm (jusqu'à à 3,5 x 2,0 µm pour Septata). Les spores montrent une forme ovoïde réfractaire caractéristique, avec une zone claire semblable à une vacuole. La paroi des spores se colore en rouge-rosé brillant, alors que le contenu des spores demeure transparent, ou montre une rayure rouge-rosée.

Levures: Elles sont plus longues et de taille plus variable. La coloration est rougeâtre ou bleu clair, et plus uniforme. Des bourgeonnements peuvent parfois être observés. D'autres parasites peuvent prendre une coloration grise à bleu foncé. Le matériel de fond et les artéfacts sont colorés en bleu.

CONTROLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

A. Contrôles positif et négatifs

Des échantillons contrôles positif et négatif pour les microsporidies, ou des lames contrôles doivent être utilisés dans chaque série de test. Les critères d'acceptation sont les mêmes que dans le paragraphe Interpretation Des Résultats.

B. La qualité des réactifs doit être évaluée à chaque fois qu'un échantillon de patient est testé.

1. Tous les bacs de coloration doivent être recouverts pour éviter l'évaporation des réactifs.
2. En fonction du nombre de lames colorées, les réactifs devront être changés sur une base régulière (par exemple, toutes les 30 lames).
3. Le but du premier rinçage à l'alcool après l'étape de décoloration est d'interrompre la décoloration. Puisque le report de l'alcool-acide se produit, il est recommandé de changer fréquemment cette solution.

Si les réactions attendues ne sont pas observées, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.

USO INDICADO

El azul tricrómico es una coloración que permite una diferenciación excelente de las esporas de microsporidium tanto en materia fecal fresca, como preservada, sedimento urinario, aspirados nasofaríngeos y otros líquidos corporales.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El microsporidium es un protozooario intracelular obligado formador de esporas perteneciente al phylum Microspora. Especies pertenecientes a cinco géneros: *Nosema*, *Encephalitozoon*, *Pleistophora*, *Septata* y *Encephalitozoon* han sido implicadas como parásitos humanos causantes de enfermedad especialmente en individuos con compromiso del sistema inmune como por ejemplo pacientes con SIDA.¹⁻³

El diagnóstico definitivo ha sido impedido por la dificultad para detectar estos protozoarios. En 1992, Weber y col⁴ describieron un procedimiento utilizando una modificación de la tinción Tricrómica para la tinción de Microsporidium a partir de materia fecal fijada con formalina y de aspirados duodenales. A pesar de que la tinción de Weber constituyó un mejoramiento significativo, la carencia de un colorante de fondo hace que el examen de un número considerable de láminas sea muy difícil y consuma mucho tiempo.

En 1993, Ryan y col. modificaron aún más la tinción Tricrómica, sustituyendo el verde rápido de la tinción de Weber por azul de anilina.⁵ La última modificación tiñó el material de fondo con un color azul intenso que contrastaba muy efectivamente con el color entre rosado y rojo de los microsporidium teñidos. Con esta tinción, es posible también detallar la estructura interna del parásito. Por lo tanto, este método constituye una forma práctica para hacer determinaciones de microsporidium tanto en materia fecal fresca como preservada, sedimentos urinarios, esputo inducido y aspirados nasofaríngeos.⁵ También se ha determinado que el aumento de la temperatura de tinción puede mejorar la intensidad y disminuir el tiempo de tinción.⁶

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

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

1. Cromotropo 2R
2. Azul de anilina
3. Ácido fosfotúngstico
4. Ácido acético glacial
5. Agua desionizada

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Controles positivo y negativo
2. Formalina al 10% y recipientes para recolección
3. Láminas portaobjetos y laminillas cubreobjetos
4. Recipientes para tinción y gradilla para tinción
5. Metanol absoluto
6. Alcohol ácido (ácido acético al 0,45% en Etanol al 90%)
7. Etanol al 95%
8. HEMO-DE (substituto de xileno)
9. Medio de montaje
10. Microscopio con objetivo de inmersión de 100x

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. Los reactivos pueden causar irritación de la piel, ojos, y tracto respiratorio. Evite respirar vapores y el contacto con la piel y los ojos.
3. Cada muestra representa una fuente potencial de material infeccioso y deberá ser manejada de la manera apropiada para ello.
4. Nunca devuelva la tinción usada a la botella en que venía. Deseche de manera apropiada después de usar.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

 Trichrome Blue	Palabra de advertencia Peligro Indicaciones de peligro H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves H332 - Nocivo en caso de inhalación H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos Consejos de prudencia - UE (528, 1272/2008) P280 - Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección. P260 - No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol P303 + P361 + P353 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse P280 - Llevar gafas/máscara de protección P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico
---	--

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad de la tinción Azul Tricrómico está indicada en la etiqueta del kit. Almacene el kit a 15-30 C. Las temperaturas de calor o frío excesivo deben evitarse.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

A. Preparación de la muestra

Las muestras de materia fecal preservada en formalina al 10%, Formalina al 5%, ó en ácido acético-acetato de sodio y formalina (SAF) pueden utilizarse. Con el objeto de asegurar una fijación adecuada la mezcla de agente preservante y materia fecal debe dejarse reposar por lo menos durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las muestras de orina pueden sedimentarse por centrifugación a 15.000 xg durante 30 segundos ó a 400 xg durante 10 minutos.³ Luego resuspenda la muestra con formalina tamponada al 10% hasta completar una décima parte del volumen original.

Para lograr mejores resultados, entre 2 y 3 mL de materia fecal preservada pueden concentrarse antes de procesarse utilizando el procedimiento de sedimentación de formalina-etil acetato centrifugando el concentrado durante 10 minutos a 500 xg.⁷ Las muestras deben manejarse de acuerdo con las pautas establecidas.^{8, 9}

B. Preparación de la lámina

1. Con un asa calibrada o pipeta, coloque 10 µL de concentrado de materia fecal fijada sobre una lámina portaobjetos.
2. Esparza una capa delgada sobre un área aproximada de 45 x 25 mm.
3. Deje que las láminas se sequen completamente (generalmente durante toda la noche a temperatura ambiente, o a 37 C durante dos horas).
4. Fije las láminas en metanol durante cinco minutos y deje que se sequen al aire.

C. Tinción

- 1a. Caliente la tintura de azul tricrómico* colocándola en una incubadora a 37 C al menos durante una hora. Luego, coloque las láminas en la tintura durante 30 minutos (procedimiento recomendado).

ó

- 1b. La tintura de azul tricrómica puede usarse a temperatura ambiente, colocando las láminas dentro de la tintura durante 90 minutos.

Nota: Todos los pasos de deshidratación siguientes (2-6) deben realizarse a temperatura ambiente.

2. Enjuague con alcohol ácido durante 10 segundos.
3. Enjuague con etanol al 95% durante 10 segundos.
4. Deshidrate en etanol al 95% dos veces, durante cinco minutos cada vez.
5. Deshidrate en reactivo de limpieza HEMO-DE durante cinco minutos.
6. Monte con Permout y cubra con una laminilla.**

*Mezcle muy bien la tintura de Azul tricrómico a mano antes de dispensarla. En caso de que haya precipitados visibles, filtre antes de usarla.

**Si desea guardarse como registro permanente, evite exponer la lámina a la luz.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Microsporidium: El tamaño aproximado de las esporas es de 1,5 x 0,9 mm (puede llegar a 3,5 x 2,0 mm para Septadas). Las esporas exhiben una forma oval y refráctil característica con una zona clara en forma de vacuola. La pared de la espora se tiñe entre rosado y rojo fuerte, mientras que todo el contenido de la espora permanezca ya sea de color transparente o muestra una franja en forma de cinturón de color entre rosado y rojo.

Levaduras: Tamaño mayor y más variable. Tiñen de color rojizo o azul claro y más uniforme, algunas veces mostrando gemación. Otros parásitos pueden teñirse de color gris a azul oscuro. El material de fondo y demás artefactos se teñirán de color azul.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

- A. Control positivo y negativo:** Cada corrida debe incluir muestras de control positivo y negativo para Microsporidium. El criterio de aceptación es idéntico al de "Interpretacion De Resultados".
- B. Debe realizarse una evaluación de la calidad de los reactivos cada vez que se examina una muestra de un paciente.**
 1. Todos los recipientes de tinción deben cubrirse para prevenir la evaporación de los reactivos.
 2. Dependiendo del volumen de láminas teñidas, los reactivos deben cambiarse cada vez que se requiera; por ejemplo, después de que se tiñan 30 láminas.
 3. El propósito del primer enjuague con alcohol después de decolorar es el de interrumpir la decoloración. Puesto que es posible que el alcohol ácido quede en la lámina y contamine el siguiente reactivo, éste deberá cambiarse con frecuencia.

Si los resultados esperados para el control no son observados, repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.

REFERENCES

1. Shadduck JA and Greeley E. Microsporidia and human infections. Clin Micro Rev. 2(2):158-165. 1989
2. Orenstein JM. Microsporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. J Parasitol. 1991;77(6):843-864.
3. Aldras AM, Orenstein JM, Kotler DP, Shadduck JA and Didier ES. Detection of microsporidia by indirect immunofluorescence antibody test using polyclonal and monoclonal antibodies. J Clin Micro 1994;32(3):608-612.
4. Weber R, Bryan RT, Owen RL, Wilcox CM, Gorelkin L, Visvesvara GS and The enteric opportunistic infections working group improved light-microscopical detection of microsporidia spores in stool and duodenal aspirates. N Engl J Med 1992;32(63):161-166.
5. Ryan NJ, Sutherland G, Coughlan K, Globan M, Doultree J, Marshall J, Baird RW, Pedersen J, and Dwyer B. A new trichrome-blue stain for detection of microsporidial species in urine, stool and nasopharyngeal specimens. J Clin Micro 1993;31(12):3264-3269.
6. Kokoskin E, Gyorkos TW, Campus A, Cedilotte L, Purtil T and Ward B. Modified technique for efficient detection of microsporidia. Clin Micro 1994;32(4):1074-1075.
7. Yang J and Scholten T. A fixative for intestinal parasites permitting the use of concentration and permanent staining procedures. Am J Clin Pathol. 1977;67:300-304.
8. Hausler Jr WJ, Herrman KL, Isenberg HD and Shadomy HJ. (Eds). Manual of clinical microbiology, 5th Ed. 1991. ASM.
9. Garcia LS and Bruckner DA. Diagnostic medical parasitology, 2nd ed. Elsevier, New York. 1993.

SN10902

REV. 10/22

 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
--	--

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/package 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 fulfil the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on in-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recano il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfa 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 Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
			CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Riskogefahr
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 / Fabbricante / 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 limit / 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
R. 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 esta 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		

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.