

**Para-Pak® SYSTEMS**  
**For use with Zn-PVA and Formalin**

US Patent No. 5624554

REF 901012

IVD

Rx Only

**INTENDED USE**

Para-Pak Zn-PVA based systems provide standardized procedures for the routine collection, transportation, preservation, and examination of stool specimens for intestinal parasites. 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**

Diagnosis of intestinal parasitic disease is confirmed by recovery and identification of helminth eggs and larvae, or protozoan trophozoites and cysts in the clinical parasitology laboratory. Timely collection and transportation of "fresh" stool specimens to the laboratory cannot always be insured. Workload conditions and priorities in clinical laboratories frequently do not permit immediate examination of "fresh" specimens. Procedures such as incubation, refrigeration, or freezing of stool specimens will not guarantee the recovery of all diagnostic stages of all parasites.<sup>5, 6, 8, 9, 11, 12</sup> In 1949, Brooke and Goldman described the use of PVA-fixative for the preservation of intestinal protozoa. The efficacy of the two vial PVA/10% Formalin method in the transportation and preservation of stool specimens has since been confirmed by numerous authors.<sup>2-6, 8, 9</sup> Proper use of the Para-Pak Zn-PVA/Formalin systems assures the parasitologist that the diagnostic stages of intestinal parasites will be preserved if present in the fecal material.

**BIOLOGICAL PRINCIPLES**

Reagent alcohol (28%) in a stabilizing solution containing zinc sulfate and polyvinyl alcohol provides an acceptable preservative-fixative for protozoan trophozoites and cysts. The resulting permanent slide lends itself to commonly used staining procedures such as Wheatley's trichrome or iron hematoxylin.<sup>2,4, 13</sup> Ten-percent formalin preserved specimens may be examined directly or concentrated for recovery of eggs, larvae, and protozoan cysts.

**REAGENTS/MATERIALS PROVIDED**

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

Each kit consists of one vial containing 15 mL of Zn-PVA fixative and one vial containing 15 mL of 10% Formalin preservative. Single vial cases are also available. Simple directions for patients and nursing personnel are also provided in ten languages.

**Catalog# 901012**

Zn-PVA (item# 9012)

**MATERIALS NOT PROVIDED**

1. Ethyl acetate (suggested) or ether (optional)
2. Physiological saline
3. Zinc Sulfate Solution
4. Cotton tipped applicator sticks
5. Microscope slides and coverslips
6. Centrifuge
7. Microscope
8. Transfer pipettes

**PRECAUTIONS**

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Avoid contact of fixative solutions with the skin and eyes. Should contact occur, flush with running water. If irritation should develop, see a physician.
3. Fixative solutions are poisonous. If ingested, call a physician immediately.
4. Due to the infectious nature of unpreserved stools, care and handwashing should be employed when the specimen is collected and manipulated.
5. Formalin is a potential cancer hazard.
6. Zn-PVA is flammable.
7. 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.
8. IMPORTANT: See SDS for additional safety and hazard information.

**HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS**

|                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p style="text-align: center;">Para-Pak Zn-PVA Fixative</p> | <p><b>Signal Word</b><br/>Danger</p> <p><b>Hazard Statements</b><br/>H302 - Harmful if swallowed<br/>H411 - Toxic to aquatic life with long lasting effects<br/>H314 - Causes severe skin burns and eye damage<br/>H330 - Fatal if inhaled<br/>H350 - May cause cancer<br/>H225 - Highly flammable liquid and vapor<br/>Contains Zinc sulfate, Methyl alcohol, Isopropyl alcohol, Acetic acid</p> <p><b>Precautionary Statements - EU (§28, 1272/2008)</b><br/>P280 - Wear eye protection/ face protection<br/>P305 + P351 + P338 - IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing<br/>P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/ physician<br/>P210 - Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. - No smoking<br/>P370 + P378 - In case of fire: Use dry sand, dry chemical or alcohol-resistant foam for extinction<br/>P304 + P340 - IF INHALED: Remove to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing<br/>P403 + P233 - Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed<br/>P260 - Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray<br/>P303 + P361 + P353 - IF ON SKIN (or hair): Remove/ Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower<br/>P201 - Obtain special instructions before use<br/>P281 - Use personal protective equipment as required<br/>P308 + P313 - IF exposed or concerned: Get medical advice/ attention</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## SHELF LIFE AND STORAGE

Shelf life of the Para-Pak Systems is indicated on the outer package label. Store at room temperature (15-30 C). Excessive heat or cold should be avoided.

## SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

1. The patient should be cautioned against the use of antacids, barium, bismuth, antidiarrheal medication, or oily laxatives prior to collection of the specimen.
2. To assure recovery of parasitic elements which are passed intermittently and in fluctuating numbers, three specimens spaced a few days apart must be examined. In the case of hospitalized patients it is suggested that all fecal passages be collected for a designated length of time to avoid prolonging the hospital stay.<sup>5,9</sup>
3. The specimen is ideally passed into a bedpan but must not be contaminated with urine. Alternatively, plastic wrap may be placed in the toilet seat opening and the specimen passed into the bag. A thoroughly cleaned and dried milk carton, cut so as to remove the upper two thirds of the carton may also be used. It will be easier to collect the specimen if the water supply to the toilet is shut off and water drained from the bowl.
4. An appropriate (i.e. bloody, slimy, watery) area of stool should be selected and sampled with the collection spoons provided in the caps of the vials. Sufficient stool is added to each vial to bring the liquid level up to the "Fill to Here" line. This will result in approximately 5 mL of sample. To insure ideal sampling of a formed stool, material should be removed from the sides, ends, and middle of the bolus.
5. Agitate each specimen with the spoon along the sides of the vial, tighten the cap and shake firmly to insure that the specimen is adequately mixed. When mixing is completed the specimen should appear homogeneous.
6. Label each vial appropriately. Return the vials to the ziplock bag, seal the bag.

## TEST PROCEDURE

The Para-Pak Systems lend themselves to a wide variety of procedures in common use. The following discussion is not exhaustive and alternatives may be found in the literature cited. While variations exist from lab to lab, a thorough examination should include at least four steps:

1. Gross examination: record the presence of blood, worms, mucus, or proglottids.
2. Direct microscopic examination from the 10% formalin preserved specimen:
  - a. Place a clean glass slide on a sheet of newsprint.
  - b. Add a drop of saline (iodine may be substituted if desired) to the slide.
  - c. Add a representative sample of formalin preserved specimen to the drop of saline and mix thoroughly with the collecting spoon. The newsprint must be just legible through the slide.
  - d. Place a double width coverslip on the suspension and examine immediately.
3. Permanent slides for staining with Wheatley's Trichrome Stain (Meridian Cat. No. 400101), iron-hematoxylin, etc.:
  - a. Pour some of the Zn-PVA-fixed material onto a paper towel and allow to stand for approximately three minutes. This will absorb excess PVA and is considered critical to obtain the best possible staining.<sup>8</sup>  
**NOTE:** Do not allow the fixed material to absorb completely into the paper towel.
  - b. Using an applicator stick or brush, spread (avoid smearing) some of the specimen from the paper towel onto one or more clean glass slides. For best adherence, spread the material to the edge of the slide.
  - c. The slides are dried overnight at room temperature or for several hours in a 37 C incubator or slide warmer. Accelerated drying may cause some morphological distortion. The slides must be dried thoroughly to avoid washing the film off during staining.
  - d. Once slides prepared in Zn-PVA have dried completely, staining may begin by placing the slides directly into the trichrome stain.
  - e. Staining Procedure: \*

|                                                             |              |
|-------------------------------------------------------------|--------------|
| 1. Trichrome Stain                                          | 6-8 minutes  |
| 2. 90% Alcohol Acidified                                    | 2 quick dips |
| 3. 95% Alcohol                                              | Dip twice    |
| 4. 95% Alcohol                                              | 5 minutes    |
| 5. 100% Ethanol or Carbol-xylene                            | 10 minutes   |
| 6. Xylene                                                   | 10 minutes   |
| 7. Mount with coverslip using the mounting medium of choice |              |

  
\*Manual of Clinical Microbiology ASM publication. (**Note:** Other Trichrome staining procedures have shown to be compatible with Para-Pak)
4. Concentration procedures for 10% Formalin: One or more concentration procedures should be employed. No one concentration procedure works equally well for all parasites;<sup>1, 5, 11</sup> however, two in common usage that lend themselves well with to use with the Para-Pak/Para-Pak ULTRA systems are:
  - A. Formalin-ether (ethyl acetate)<sup>7, 14</sup> sedimentation:
    1. Mix the 10% formalin specimen thoroughly. The specimen is now ready for processing with the Para-Pak Macro-Con or CON-Trate Stool Concentration Systems. See the appropriate package insert for further directions.  
If Para-Pak Macro-Con or CON-Trate is not available, a sufficient quantity of specimen must be strained into a 15 mL conical centrifuge tube through one layer of narrow mesh or two layers of wide mesh gauze to provide 1.0 mL of sediment. This amount will vary with the size and density of the specimen.
    2. Add approximately 6-8 mL of 10% formalin (or saline), mix thoroughly and allow to stand five minutes.
    3. Add 3 mL of ethyl acetate or ether then stopper and shake vigorously for at least 30 seconds. Carefully remove the stopper.
    4. Centrifuge at 500 xg for 10 minutes (1800-2200 mm for most tabletop centrifuges).
    5. Four layers will be apparent:
      - a. Top layer: ethyl acetate or ether
      - b. Second layer: plug of debris
      - c. Third layer: formalin
      - d. Bottom layer sediment
    6. After ringing the plug of debris from the sides of the tube with an applicator stick, carefully decant the top three layers. While keeping the tube inverted, a cotton swab may be used to remove debris sticking to the sides of the tube. This is particularly important for obtaining suitable results with ethyl acetate and avoids solvent bubbles in the wet mount.
    7. Add a few drops of physiological saline or 10% formalin to resuspend the remaining sediment. If the resulting slides are too dense (newsprint should be legible through them) more saline or formalin may be added.
    8. Iodine and saline mounts are suggested for microscopic examination.  
**Note:** Rarely, a specimen may be extremely thick or mucoid, necessitating a preliminary wash. The wash, in physiological saline or tap water, may be implemented between steps 1e and 2. The washed material should be centrifuged as in step 4.
  - B. Zinc Sulfate flotation:
    1. Thoroughly mix a representative portion of the 10% formalin stool suspension or **fresh** unpreserved specimen in a 15 mL centrifuge tube and q.s. with tap water to approximately 10-12 mL. The amount of specimen to use will vary with its size and density.
    2. Centrifuge 1 minute at 1000-1200 xg.
    3. If sediment is about 1 milliliter in volume, decant the supernatant fluid. Otherwise adjust the density of the suspension by adding material from the 10% formalin suspension or diluting with more water. If adjustment of the sediment was necessary or if the stool is very oily, repeat the wash procedure.
    4. When using formalinized specimens, the specific gravity of the zinc sulfate solution must be adjusted to 1.2.<sup>1, 5</sup> Fill the tube about half full with zinc sulfate solution and resuspend the sediment by mixing thoroughly with applicator sticks.
    5. Add additional zinc sulfate solution to within 1 inch of the top.
    6. Centrifuge 1 minute at 1000-1200 xg.
    7. Carefully remove the tube from the centrifuge and, avoiding agitation, place it upright in a test tube rack or other suitable holder.
    8. Carefully fill the tube to the brim with zinc sulfate solution. Do not allow any overflow.
    9. A clean coverslip may now be placed on top of the tube. If the coverslip does not contact the meniscus of the liquid, carefully add more zinc sulfate solution until it does.
    10. Do not disturb the tube or coverslip for 10 minutes.
    11. With a quick, deft motion remove the coverslip straight upward so that a drop of liquid containing eggs and cysts adheres to the center of the coverslip.
    12. The coverslip may now be placed on a clean glass slide. If an iodine mount is desired, place a small drop of iodine on the slide prior to adding the coverslip. Sealing the edge of the slide with Vaspar (vaseline/paraffin 1:1 mixture) will prevent drying and distortion of the larger eggs.

#### QUALITY CONTROL

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

1. Visual inspection: Vials of Zn-PVA should contain approximately 15 mL of clear fluid, to insure 1:3 stool to preservative ratio.
2. If gelled, the fixative may be liquified by placing in a 50 C water bath until clear and fluid.
3. When a PVA fixed film of stock trophozoite or human buffy coat is stained, the organisms or cells should appear well fixed and defined.

**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.**

# Para-Pak® Sistemi

## Per l'uso con Zn-PVA e Formalina

Brevetto No. 5624554

REF 901012

IVD

Rx Only

### FINALITÀ D'USO

I sistemi Para-Pak basati sullo zinco e sullo zinco e sull'alcol polivinilico (PVA) permettono di eseguire procedure standardizzate per le comuni operazioni di raccolta, trasporto, conservazione ed analisi di campioni fecali per accertare la presenza di parassiti intestinali. 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

La diagnosi d'infezione intestinale parassitaria è confermata nel laboratorio di parassitologia clinica dal recupero e dall'identificazione di uova e larve di elminti, o da trofozoiti e cisti di protozoi. Non sempre è possibile assicurare una raccolta ed un trasporto tempestivo di campioni fecali "freschi" al laboratorio. Le condizioni di lavoro e le priorità di un laboratorio spesso non permettono l'esame immediato di campioni "freschi". Procedure quali l'incubazione, la refrigerazione o il congelamento non garantiscono il recupero di tutti gli stadi diagnostici di tutti i parassiti.<sup>5, 6, 8, 9, 11, 12</sup> Nel 1949, Brooke e Goldman hanno descritto l'uso del fissativo-PVA per conservare i protozoi intestinali. L'efficacia del metodo a due fiale, PVA/Formalina 10%, per il trasporto e la conservazione dei campioni fecali è stata confermata successivamente da numerosi autori.<sup>2-6, 8, 9</sup> Pertanto, l'uso corretto dei sistemi Para-Pak assicura al parassitologo che gli stadi diagnostici dei parassiti intestinali, se presenti nel materiale fecale, saranno conservati.

### PRINCIPI BIOLOGICI

L'alcol reagente (28%) in una soluzione stabilizzante contenente solfato di zinco e alcol polivinilico costituisce un eccellente conservante-fissativo per i trofozoiti di protozoi. Il vetrino permanente così ottenuto è indicato per le comuni procedure di colorazione, quali l'ematosilina ferrica o la tricromia di Wheatley.<sup>2-4, 13</sup> I campioni conservati in formalina 10% possono essere esaminati direttamente oppure concentrati per il recupero di uova, larve e cisti di protozoi.

### REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Ogni kit consiste di una fiala contenente 15 mL di fissativo Zn-PVA e di una fiala contenente 15 mL formalina 10% come conservante. Sono disponibili confezioni magnum di fiale singole. Il prodotto è accompagnato da semplici istruzioni in dieci lingue per i pazienti e per il personale infermieristico.

### Catalogo# 901012

Zn-PVA (articolo# 9012)

### MATERIALI NON FORNITI

1. Etilacetato (consigliato) o etere (opzionale)
2. Soluzione fisiologica salina
3. Soluzione al solfato di zinco
4. Bastoncini di cotone applicatori
5. Vetrini e vetrini coprioggetto per microscopio
6. Centrifuga
7. Microscopio
8. Pipette di trasferimento

### PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. Evitare il contatto della soluzione fissativa con la pelle e con gli occhi. In caso di contatto, lavare con acqua corrente. Se si sviluppa irritazione, rivolgersi al medico.
3. Le soluzioni fissative sono velenose. Se ingerite, chiamare immediatamente il medico.
4. A causa della natura infettiva delle feci non conservate, usare la massima attenzione e indossare i guanti e, in sede di ottenimento e manipolazione del campione, lavarsi le mani.
5. La formalina rappresenta un rischio potenziale di cancro.
6. Lo Zn-PVA è infiammabile.
7. 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.
8. IMPORTANTE: per ulteriori informazioni sulla sicurezza e sui pericoli, consultare la SDS.

### DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

|                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Para-Pak Zn-PVA Fixative</p> | <p><b>avvertenza</b><br/>Pericolo</p> <p><b>indicazioni di pericolo</b><br/>H302 - Nocivo se ingerito<br/>H411 - Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata<br/>H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari<br/>H330 - Letale se inalato.<br/>H350 - Può provocare il cancro<br/>H225 - Liquido e vapori facilmente infiammabili<br/>Contiene Solfato di zinco, Metanolo, Alcool isopropilico, Acido acetico</p> <p><b>Consigli di Prudenza - UE (§28, 1272/2008)</b><br/>P280 - Indossare protezione per occhi/viso<br/>P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare<br/>P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico<br/>P210 - Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. - Non fumare<br/>P370 + P378 - In caso di incendio: estinguere con sabbia secca, prodotto chimico secco o schiuma resistente all'alcol<br/>P304 + P340 - IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione<br/>P403 + P233 - Tenere il recipiente ben chiuso e in luogo ben ventilato<br/>P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol<br/>P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/ fare una doccia.<br/>P201 - Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso<br/>P281 - Utilizzare il dispositivo di protezione individuale richiesto<br/>P308 + P313 - IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico</p> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La durata utile del sistema Para-Pak è indicata sull'etichetta della confezione esterna. Conservare a temperatura ambiente (15-30 C). Evitare temperatura molto calde e molto fredde.

## RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. Avvertire il paziente di non assumere antiacidi, bario, bismuto, medicinali antidiarroici o lassativi oleosi, prima della raccolta del campione.
2. Per assicurare il recupero di elementi parassitici evacuati ad intermittenza ed in numero variabile, esaminare tre campioni raccolti a distanza di alcuni giorni l'uno dall'altro. Nel caso di pazienti ricoverati in ospedale, per evitare una degenza più lunga del necessario, si consiglia di raccogliere tutte le evacuazioni intestinali entro un determinato periodo di tempo.<sup>5,9</sup>
3. Il campione viene preferibilmente raccolto in una padella da lotto, ma non deve essere contaminato dall'urina. Come alternativa alla padella da letto, il campione può essere raccolto in un sacchetto dopo aver sistemato una pellicola trasparente di cellophane sull'apertura del sedile del vase-o. Un altro mezzo di raccolta può essere un contenitore di cartone del latte, accuratamente pulito e perfettamente asciutto, dal quale vengono tagliati e rimossi due terzi del lato superiore. La raccolta del campione risulterà più facile se viene rimossa la fornitura dell'acqua al gabinetto e si provvede a tirare due volte lo sciacquone.
4. Selezionare una sezione appropriata (sanguigna, viscida, acquosa) delle feci e prelevarne un campione utilizzando i cucchiaini apposti forniti sui tappi delle fiale. Riempire ciascuna fiala di una quantità di feci sufficiente per portare il livello del liquido alla riga contrassegnata con le parole "Fill to Here". In tal modo si saranno raccolti circa 5 mL di campione. Per assicurare un campionamento adeguato di feci, rimuovere materiale dai lati, dalle estremità e dal centro del bolo.
5. Con il cucchiaino, agitare i campioni sui lati della fiala, tappare la fiala e agitare con decisione, per ottenere un campione adeguatamente miscelato. Al termine della miscelazione, il campione dovrebbe apparire omogeneo.
6. Etichettare ogni fiala nel modo appropriato. Riporre le fiale nel sacchetto a chiusura ermetica e sigillare il sacchetto.

## PROCEDURA DEL TEST

I sistemi Para-Pak si prestano per una grande varietà di procedure d'uso comune. L'elenco seguente è solo un esempio delle applicazioni possibili; ulteriori utilizzi sono illustrati nelle pubblicazioni citate. Anche se variazioni procedurali sono possibili fra i diversi laboratori, un'analisi completa del campione dovrebbe comprendere almeno quattro fasi operative:

1. Esame generale: Rilevare la presenza di sangue, vermi, muco o proglottidi.
2. Esame diretto al microscopio del campione conservato in formalina 10%:
  - a. Mettere un vetrino pulito su un foglio di giornale.
  - b. Versare sul vetrino una goccia di soluzione salina (oppure iodata).
  - c. Alla goccia di soluzione salina, aggiungere una quantità rappresentativa del campione conservato in formalina, quindi mescolare a fondo con il cucchiaino di raccolta. La pagina di giornale deve essere appena leggibile attraverso il vetrino.
  - d. Mettere sulla sospensione un vetrino coprioggetto di larghezza doppia ed esaminare immediatamente.
3. Vetrini permanenti per la colorazione con ematossilina ferrica, tricromia di Wheatley (N. di catalogo Meridian 400101), ecc.:
  - a. Versare una parte del materiale fissato con Zn-PVA su un asciugamano di carta e attendere tre minuti. In tal modo l'eccesso di PVA verrà assorbito e garantisce la migliore colorazione possibile.<sup>8</sup>  
**NOTA:** evitare che il materiale fissato venga completamente assorbito dall'asciugamano di carta.
  - b. Con un bastoncino applicatore o uno spazzolino, stendere (senza imbrattare) parte del campione dall'asciugamano di carta su una o più vetrini puliti. Per un'aderenza migliore, stendere il materiale fino al bordo del vetrino.
  - c. I vetrini si asciugano a temperatura ambiente durante la notte, o per diverse ore, in un incubatore a 37 C o in un riscaldatore di vetrini. L'asciugatura accelerata può causare una certa distorsione morfologica. Per evitare il rischio che la pellicola venga eliminata durante la colorazione, accertarsi che i vetrini siano completamente asciutti.
  - d. Una volta che i vetrini preparati con Zn-PVA sono completamente asciutti, la colorazione può avere inizio ponendo i vetrini direttamente nel colorante tricromatico.
  - e. Procedura di colorazione:

|                                                                                    |                     |
|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 1. Colorante tricromatico                                                          | 6-8 minuti          |
| 2. Alcol acidificato 90%                                                           | 2 immersioni rapide |
| 3. Alcol 95%                                                                       | Immergere due volte |
| 4. Alcol 95%                                                                       | 5 minuti            |
| 5. 100% Etanolo o fenolo-xilene                                                    | 10 minuti           |
| 6. Xilene                                                                          | 10 minuti           |
| 7. Bagnare con il vetrino coprioggetto usando la soluzione di montaggio preferita. |                     |

\*Manual of Clinical Microbiology ASM publication (Nota: Para-Pak si è dimostrato compatibile con altre procedure di colorazione tricromatiche).

4. Procedure di concentrazione per la formalina 10%: Dovranno essere eseguite una o più procedure di concentrazione. Un solo tipo di concentrazione non funziona ugualmente bene per tutti i parassiti.<sup>1,5,11</sup> tuttavia, due procedure d'uso comune che si prestano bene per l'uso con il sistema Para-Pak sono:
  - A. Sedimentazione formalina-etere (etilacetato<sup>7,14</sup>):
    1. Miscelare a fondo il campione in formalina 10%. Il campione è ora pronto per essere lavorato con i sistemi di concentrazione delle feci Para-Pak Macro-Con o Para-Pak CON-Trate. Per ulteriori istruzioni, vedere l'appropriato foglio illustrativo del sistema.  
Se il sistema Para-Pak Macro-Con o Para-Pak CON-Trate non è disponibile, colare una quantità sufficiente di campione in una provetta conica da centrifuga, di 15 mL, attraverso una strato di garza a trama stretta, o due strati di garza a trama larga, per ottenere 1,0 ml di sedimento. Questa quantità varierà a seconda della dimensione e della densità del campione.
    2. Aggiungere circa 6-8 mL di formalina 10% (o di soluzione fisiologica salina), miscelare a fondo e lasciare riposare per cinque minuti.
    3. Aggiungere 3 mL di acetato di etile, tappare e agitare vigorosamente la provetta per almeno 30 secondi. Con attenzione, rimuovere il tappo.
    4. Centrifugare per 10 minuti a 500 xg (1800-2200 rpm per la maggior parte delle centrifughe da tavolo).
    5. Risulteranno evidenti quattro strati:
      - a. Strato superiore: acetato di etile o etere
      - b. Secondo strato: tappo di detriti
      - c. Terzo strato: formalina
      - d. Strato inferiore: sediment
    6. Con un bastoncino applicatore, staccare il tappo di detriti dai lati della provetta, quindi decantare delicatamente i tre strati superiori. Tenendo la provetta capovolta, usare un bastoncino di cotone per rimuovere i detriti appiccicati ai lati della provetta. Questa operazione è particolarmente importante per ottenere risultati soddisfacenti con l'acetato di etile ed inoltre evita la formazione di bollicine di solvente sul supporto bagnato.
    7. Aggiungere alcune gocce di soluzione fisiologica salina o formalina 10% per sospendere di nuovo il sedimento residuo. Se i vetrini risultanti sono troppo densi (il foglio di giornale dovrebbe essere leggibile attraverso i vetrini), si può aggiungere un'ulteriore quantità di soluzione fisiologica o di formalina.
    8. Per l'esame al microscopio, si consiglia di usare soluzioni di montaggio iodate e saline.  
**Nota:** raramente un campione risulta talmente denso o mucoide da rendere necessario un suo lavaggio preliminare. Il lavaggio, in una soluzione fisiologica salina o in acqua di rubinetto, può essere eseguito dopo il passo 1e e prima del passo 2. Il materiale lavato deve essere centrifugato come descritto al passo 4.
  - B. Galleggiamento in solfato di zinco:
    1. Miscelare a fondo una quantità rappresentativa di sospensione di campione conservato in formalina 10% o di campione **fresco** non conservato in una provetta di 15 mL da centrifuga e con una quantità sufficiente d'acqua di rubinetto fino a circa 10-12 mL. La quantità di campione varierà a seconda della sua dimensione e densità.
    2. Centrifugare per un minuto a 1000-1200 xg.
    3. Se il volume del sedimento è circa un millimetro, decantare il liquido supernatante, altrimenti modificare la densità della sospensione aggiungendo materiale dalla sospensione in formalina 10% o diluendo con ulteriore acqua. Se la regolazione del sedimento è risultata necessaria o se le feci sono molto oleose, ripetere la procedura di lavaggio.
    4. Quando vengono usati campioni formalizzati, la densità relativa della soluzione al solfato di zinco deve essere regolata su 1,2.<sup>1,5</sup> Riempire metà provetta con la soluzione al solfato di zinco e sospendere di nuovo il sedimento miscelando a fondo con bastoncini applicatori.
    5. Aggiungere un'ulteriore quantità di soluzione al solfato di zinco fino all'altezza di un pollice della cima della provetta.
    6. Centrifugare per un minuto a 1000-1200 xg.
    7. Con attenzione, rimuovere la provetta dalla centrifuga e, senza agitare, metterla nel cestello delle provette per analisi o in altro contenitore idoneo.
    8. Con attenzione, riempire la provetta fino all'orlo con soluzione al solfato di zinco. Evitare il traboccamento.
    9. Mettere adesso un vetrino coprioggetto pulito sulla parte alta della provetta. Se il vetrino coprioggetto non tocca il menisco del liquido, con attenzione aggiungere ancora della soluzione al solfato di zinco fino ad ottenere il contatto.
    10. Non toccare la provetta o il vetrino coprioggetto per 10 minuti.
    11. Con un movimento rapido ed agile, rimuovere, in posizione dritta e verso l'alto, il vetrino coprioggetto, in modo che una goccia del liquido contenente le uova e la cisti aderisca al centro del vetrino coprioggetto.
    12. Il vetrino coprioggetto può essere ora posto su un vetrino pulito. Se si desidera usare un campione bagnato con soluzione iodata, prima di aggiungere il vetrino coprioggetto, mettere una piccola goccia di soluzione iodata sul vetrino pulito. L'asciugatura e la distorsione delle uova più grandi sarà evitata sigillando il bordo del vetrino con Vaspar (miscela 1:1 di vaselina e paraffina).

## CONTROLLO DI QUALITÀ

***Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.***

1. Ispezione visiva: per garantire una proporzione 1:3 feci/conservante, le fiale di Zn-PVA devono contenere circa 15 mL di liquido trasparente.
2. In caso di formazione di gel, il fissativo può essere liquefatto ponendolo in un bagno d'acqua calda a 50 C fino a quando diventa trasparente e liquido.
3. Quando la pellicola di trofozoiti polivalenti fissati con PVA o il rivestimento di sovratanate umano sono colorati, gli organismi o le cellule devono apparire ben fissati e definiti.

**Se non si ottengono i risultati attesi con i Controlli, come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test di controllo. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale (Italia +39 033 143 3636).**

## Para-Pak® Systèmes

### A utiliser avec du Zn-PVA et du Formol

Brevet N° 5624554

REF 901012

IVD

Rx Only

**BUT DE LA METHODE**

Les systèmes à base de Para-Pak Zn-PVA permettent des techniques normalisées pour le recueil, le transport, la conservation et l'examen d'échantillons de selles visant à la détection de parasites intestinaux. 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 parasitose intestinale est établi par la récupération et l'identification d'oeufs et de larves d'helminthes ou de trophozoïtes et de kystes protozoaires en laboratoire de parasitologie clinique. Il n'est pas toujours possible de garantir le recueil et le transport d'échantillons de selles fraîches au laboratoire dans les délais prescrits. Les conditions de travail et les priorités des laboratoires cliniques ne permettent pas toujours l'examen immédiat d'échantillons frais. Le recours à des méthodes telles que l'incubation, la réfrigération ou la congélation d'échantillons de selles ne garantit pas toujours la récupération de tous les stades diagnostiques de tous les parasites.<sup>5, 6, 8, 9, 11, 12</sup> En 1949, Brooke et Goldman ont décrit l'utilisation du fixatif PVA pour la conservation des protozoaires intestinaux. L'efficacité de la méthode PVA-formol à 10 % en deux flacons lors du transport et de la conservation d'échantillons de selles a depuis été confirmée par de nombreux auteurs.<sup>2-6, 8, 9</sup> L'utilisation correcte des systèmes Para-Pak assure ainsi au parasitologiste la conservation dans les matières fécales des stades larvaires des parasites intestinaux (s'ils sont présents) permettant de poser un diagnostic.

**PRINCIPE DU TEST**

Le réactif à base d'alcool (à 28 %) dans une solution stabilisante contenant du sulfate de zinc et de l'alcool polyvinylique fournit un fixatif de conservation acceptable pour les trophozoïtes et les kystes protozoaires. La lame permanente ainsi obtenue se prête facilement aux techniques de coloration couramment utilisées, telles que l'hématoxyline ferrique ou la technique trichrome de Wheatley.<sup>2-4, 13</sup> Les échantillons conservés au formol à 10% peuvent être examinés directement ou en préparation concentrée permettant la récupération des oeufs, des larves et des kystes protozoaires.

**MATERIEL FOURNI**

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

Chaque kit comprend un flacon contenant 15 mL de PVA-zinc (fixatif) et un flacon contenant 15 mL de formol à 10 % (conservateur). Des coffrets à un seul flacon sont également disponibles. Des directives d'utilisation simples à l'intention des patients et du personnel infirmier sont également fournies en dix langues. Les coffrets Para-Pak contiennent aussi deux flacons de surfactant (de 30 mL chacun).

**Catalogue# 901012**

Zn-PVA (article# 9012)

**MATERIEL NON FOURNI**

1. Acétate d'éthyle (recommandé) ou éther (en option)
2. Soluté physiologique
3. Solution de sulfate de zinc
4. Tiges d'applicateur à embout coton
5. Lames et lamelles pour examen microscopique
6. Centrifugeuse
7. Microscope
8. Pipettes de transfert

**PRECAUTIONS D'EMPLOI**

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Eviter tout contact cutané et oculaire avec les solutions de fixation. En cas de contact, rincer à l'eau courante. Si une irritation se manifeste, consulter un médecin.
3. Les solutions de fixation sont toxiques. En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin.
4. En raison des risques d'infection associés à des selles sans conservateur, il convient de se laver les mains après le recueil et la manipulation de l'échantillon.
5. Le formol comporte un risque cancérigène.
6. Le PVA-zinc est inflammable.
7. 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.
8. **IMPORTANT** : Voir la fiche de sécurité pour des informations supplémentaires concernant la sécurité et les dangers.

## DANGER ET MISES EN GARDE

|                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Para-Pak Zn-PVA Fixative</p> | <p><b>mention d'avertissement</b><br/>Danger</p> <p><b>mentions de danger</b><br/>H302 - Nocif en cas d'ingestion<br/>H411 - Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme<br/>H314 - Provoque des brûlures de la peau et de graves lésions des yeux<br/>H330 - Mortel par inhalation<br/>H350 - Peut provoquer le cancer<br/>H225 - Liquide et vapeurs très inflammables<br/>Contient Sulfate de zinc, Méthanol, Alcool isopropylique, Acide acétique</p> <p><b>Conseils de prudence - UE (par 28, 1272/2008)</b><br/>P280 - Porter un équipement de protection des yeux/du visage<br/>P305 + P351 + P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes.<br/>Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer<br/>P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin<br/>P210 - Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. - Ne pas fumer<br/>P370 + P378 - En cas d'incendie : Utiliser du sable sec, un agent chimique sec ou de la mousse résistant à l'alcool pour l'extinction<br/>P304 + P340 - EN CAS D'INHALATION: transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer<br/>P403 + P233 - Stocker dans un endroit bien ventilé. Maintenir le récipient fermé de manière étanche<br/>P260 - Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols<br/>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.<br/>P201 - Se procurer les instructions spéciales avant utilisation<br/>P281 - Utiliser l'équipement de protection individuel requis<br/>P308 + P313 - EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: consulter un médecin</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## STABILITE ET CONSERVATION

La durée de conservation des Para-Pak systèmes est indiquée sur son étiquette d'emballage. Conserver à température ambiante (entre 15 et 30 C). Eviter des températures excessives.

## PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

- On doit avertir le patient de ne pas prendre d'antiacides, de baryum, de bismuth, d'antiarrhéiques ou de laxatifs à base d'huile avant le recueil de l'échantillon.
- Pour assurer la récupération d'éléments parasitiques qui sont éliminés de façon intermittente et en nombres fluctuants, il convient d'examiner trois échantillons recueillis à plusieurs jours d'intervalle. Dans le cas de patients hospitalisés, il est recommandé de recueillir toutes matières fécales au cours d'un délai déterminé afin d'éviter de prolonger leur séjour à l'hôpital.<sup>5,9</sup>
- Idéalement, l'échantillon est éliminé dans un bassin mais il ne doit pas être contaminé par de l'urine. Ou encore, on peut installer un sac en plastique sur l'ouverture du siège de la toilette et éliminer l'échantillon dans le sac. Une autre solution est l'utilisation d'un carton à lait soigneusement nettoyé et séché dont les deux tiers supérieurs ont été coupés. Il est plus facile de recueillir l'échantillon si l'on coupe l'alimentation d'eau à la toilette et que l'on vide l'eau de la cuvette.
- Sélectionner et prélever un échantillon de selle approprié (provenant d'une zone sanguinolente, visqueuse ou aqueuse) à l'aide des cuillers de recueil fournies dans les bouchons des flacons. Ajouter suffisamment de selle à chaque flacon pour amener le niveau de liquide jusqu'à la ligne de remplissage. Ceci permet d'obtenir un échantillon d'environ 5 mL. Pour obtenir un échantillon idéal une selle formée, il convient de prélever du matériel des côtés, des extrémités et du milieu de la masse.
- Agiter chaque échantillon avec la cuiller le long des parois du flacon, mettre le bouchon en place et secouer vigoureusement afin d'assurer un mélange adéquat. Lorsque le mélange est accompli, l'échantillon doit avoir un aspect homogène.
- Etiqueter chaque flacon comme il convient. Remettre les flacons dans le sac ziplock et fermer ce dernier hermétiquement.

## PROCEDURA DE TEST

Les Para-Pak systèmes permettent le recours à de nombreuses méthodes couramment employées. La liste suivante n'est pas complète et on peut trouver d'autres méthodes dans la littérature citée. Bien qu'il existe des variations d'un laboratoire à l'autre, un examen approfondi doit inclure au moins quatre étapes:

- Un examen macroscopique: Noter la présence de sang, vers, mucus ou proglottis.
- Un examen microscopique direct de l'échantillon conservé dans du formol à 10%:
  - Placer une lame de verre propre sur une feuille de papier journal.
  - Déposer une goutte de soluté physiologique (on peut au besoin le remplacer par de l'iode) sur la lame.
  - Ajouter un échantillon représentatif conservé au formol à la goutte de soluté physiologique et mélanger soigneusement avec la cuiller de recueil. On doit pouvoir lire le papier journal à travers la lame.
  - Placer une lamelle à double largeur sur la suspension et examiner immédiatement.
- Des lames permanentes pour coloration à l'hématoxyline ferrique, la technique trichrome de Wheatley (catalogue Meridian n° 400101), etc.:
  - Verser une petite quantité du matériel fixé par PVA-zinc sur du papier absorbant et laisser reposer environ trois minutes. Le papier absorbe l'excédent de PVA et est considéré essentiel pour obtenir la meilleure coloration possible.<sup>8</sup>  
**REMARQUE:** Ne pas laisser le papier absorber complètement le matériel fixé.
  - A l'aide d'une tige ou d'une brosse d'apporteur, étaler (éviter l'empatement) une partie de l'échantillon déposé sur le papier absorbant sur une ou plusieurs lames en verre propres. Pour une meilleure adhérence, étaler la matière vers le bord de la lame.
  - Laisser les lames sécher jusqu'au lendemain à température ambiante ou pendant quelques heures dans un incubateur à 37 C ou une platine chauffante pour lames. Un séchage accéléré risque de provoquer une distorsion morphologique. Les lames doivent être complètement séchées pour éviter de faire disparaître le film lors de la coloration.
  - Une fois que les lames préparées au PVA-zinc ont complètement séché, on peut commencer la coloration en les plaçant directement dans le colorant trichrome.
  - Coloration: \*
    - Colorant trichrome 6 à 8 minutes
    - Alcool à 90% acidifié 2 immersions rapides
    - Alcool à 95% Deux immersions
    - Alcool à 95% 5 minutes
    - Éthanol à 100% ou xylène phéniqué 10 minutes
    - Xylène 10 minutes
    - Recouvrir d'une lamelle en utilisant le produit de préparation voulu.

\*Manual of Clinical Microbiology ASM publication, (Remarque: il a été démontré que d'autres méthodes de coloration trichrome étaient compatibles avec le Para-Pak).



4. Techniques de concentration pour le formol à 10%: Il convient de recourir à une ou plusieurs techniques de concentration. Aucune technique de concentration n'est universellement efficace pour tous les parasites;<sup>1, 5, 11</sup> mais les deux techniques courantes suivantes se prêtent bien à leur utilisation avec les systèmes Para-Pak:
  - A. La sédimentation par formol-éthyle (ou acétate d'éthyle<sup>7, 14</sup>):
    1. Bien mélanger la solution échantillon-formol à 10%. L'échantillon est alors prêt à traiter avec les systèmes de concentration de selles Para-Pak Macro-Con ou CON-Trate. Consulter la notice du produit appropriée pour des directives supplémentaires.
    - Si des systèmes Para-Pak Macro-Con ou CON-Trate ne sont pas disponibles, filtrer une quantité suffisante d'échantillon dans un tube à centrifuger conique de 15 mL à travers une épaisseur de gaze à mailles étroites ou deux épaisseurs de gaze à mailles larges afin d'obtenir 1 mL de sédiment. Cette quantité peut varier en fonction de la taille et de la densité de l'échantillon.
    2. Ajouter environ 6 à 8 mL de formol à 10%, (ou de soluté physiologique), bien mélanger et laisser reposer pendant 5 minutes.
    3. Ajouter 3 mL d'acétate d'éthyle ou d'éther, mettre le bouchon en place et secouer vigoureusement pendant au moins 30 secondes. Retirer le bouchon avec précaution.
    4. Centrifuger à 500 xg (1800 à 2200 tours/minute pour la plupart des centrifugeuses de table) pendant 10 minutes.
    5. Quatre couches deviennent visibles:
      - a. la couche supérieure: acétate d'éthyle ou éther
      - b. la seconde couche: un culot de débris
      - c. la troisième couche: la formoline
      - d. la couche inférieure: le sédiment
    6. Essorer le culot de débris en le pressant contre les parois du tube avec une tige d'apporteur, puis décanter les trois couches supérieures. En conservant le tube inversé, on peut utiliser un coton-tige pour faire tomber les débris collés aux parois du tube. Cette étape est particulièrement importante pour obtenir des résultats adéquats avec de l'acétate d'éthyle et éviter l'apparition de bulles de solvant dans la préparation humide.
    7. Ajouter quelques gouttes de soluté physiologique ou de formol à 10% pour remettre le reste du sédiment en suspension. Si les lames obtenues sont trop denses (on doit pouvoir lire une feuille de journal à travers), on peut ajouter davantage de soluté physiologique ou de formol.
    8. Des préparations à l'iode ou au soluté physiologique sont recommandées pour un examen microscopique.

**Remarque:** Dans de rares cas, un échantillon peut être extrêmement épais ou glaireux, nécessitant un rinçage préliminaire. On peut procéder à ce rinçage dans du soluté physiologique ou de l'eau courante entre les étapes 1 et 2. Centrifuger le matériel rincé conformément à l'étape 4.

  - B. Flottation au sulfate de zinc:
    1. Mélanger complètement une portion représentative de la suspension de selle dans le formol à 10% ou un échantillon **frais** sans conservateur dans un tube à centrifuger de 15 mL et ajouter autant d'eau du robinet qu'il est nécessaire pour obtenir 10 à 12 mL. La quantité d'échantillon à utiliser peut varier en fonction de sa taille et de sa densité.
    2. Centrifuger à 1000 à 1200 xg pendant une minute.
    3. Si le volume du sédiment est d'environ 1 mL, décanter le liquide supernatant. Sinon, ajuster la densité de la suspension en ajoutant du matériel de la solution de formol à 10% ou par dilution en rajoutant de l'eau. Si un ajustement du sédiment s'avère nécessaire ou si la selle est très visqueuse, recommencer l'étape de rinçage.
    4. Lors de l'utilisation d'échantillons conservés au formol, la densité de la solution de sulfate de zinc doit être ajustée à 1,2.<sup>1, 5</sup> Remplir le tube à moitié de solution de sulfate de zinc et remettre le sédiment en suspension en le mélangeant bien avec une tige d'apporteur.
    5. Ajouter de la solution de sulfate de zinc jusqu'à 2,5 cm de la surface.
    6. Centrifuger à 1000 à 1200 xg pendant une minute.
    7. Retirer le tube de la centrifugeuse avec précaution et, en évitant de l'agiter, le placer verticalement dans un porte-tubes ou un autre support adapté.
    8. Remplir précautionneusement le tube jusqu'au bord avec de la solution de sulfate de zinc. Ne pas faire déborder.
    9. Placer alors une lamelle propre sur le tube. Si la lamelle n'est pas en contact avec le ménisque du liquide, ajouter précautionneusement davantage de solution de sulfate de zinc jusqu'à l'obtention du contact.
    10. Ne pas toucher au tube ni à la lamelle pendant 10 minutes.
    11. D'un mouvement rapide et sans hésitation, soulever la lamelle tout droit vers le haut afin qu'une goutte de liquide contenant des oeufs et des kystes adhère au centre de la lamelle.
    12. Placer la lamelle sur une lame de verre propre. Si l'utilisateur désire une préparation à l'iode, déposer une petite goutte d'iode sur la lame avant d'y poser la lamelle. On peut sceller le bord de la lame avec du vaspar (mélange de vaseline/paraffine dans une proportion de 1:1 pour éviter l'assèchement et la distorsion des plus gros oeufs).

#### 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.**

1. Examen à l'oeil nu: Les flacons de Zn-PVA doivent contenir environ 15 mL de liquide limpide pour assurer une proportion de 1:3 de selle par rapport au conservateur.
2. En cas de gélification, on peut liquéfier le fixatif en le plaçant dans un bain d'eau à 50 °C jusqu'à ce qu'il soit limpide et liquide.
3. Lorsqu'un film de trophozoïtes ou une couche leucocytaire d'origine humaine de la solution de réserve fixé par PVA est coloré, les organismes ou les cellules doivent apparaître bien fixés et définis.

**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.**

# Para Pak® Sistemas Para uso con Zn-PVA y Formalina

No de la Patente. 5624554

REF 901012

IVD

Rx Only

## USO INDICADO

Los sistemas Para-Pak con base de Zn-PVA proporcionan procedimientos estandarizados para la recolección, el transporte, la conservación y el análisis de rutina de muestras de materia fecal para parásitos intestinales. Los sistemas del equipo están diseñados para brindar un uso fácil a personas no capacitadas en procedimientos microbiológicos y son un medio excelente para reducir al mínimo los efectos adversos del retraso en el transporte de la muestra.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El diagnóstico de la enfermedad parasítica intestinal se confirma mediante la recuperación e identificación de huevos y larvas de helmintos, o quistes y trofocitos de protozoarios en el laboratorio de parasitología clínica. La recolección y el transporte oportunos de muestras "frescas" de materia fecal al laboratorio no siempre se pueden asegurar. Con frecuencia, las condiciones de carga de trabajo y las prioridades en los laboratorios clínicos no permiten el análisis inmediato de muestras "frescas". Los procedimientos como la incubación, refrigeración o congelación de muestras de materia fecal no garantizan la recuperación de todas las etapas de diagnóstico de todos los parásitos.<sup>5, 6, 8, 9, 11, 12</sup> En 1949 Brooke y Goldman describieron el uso del fijador PVA (alcohol polivinílico) para la conservación de protozoarios intestinales. La eficacia del método de dos frascos de PVA/Formalina al 10% en el transporte y la conservación de muestras de materia fecal ya se ha confirmado por numerosos autores.<sup>2-6, 8, 9</sup> El uso adecuado de los sistemas Para-Pak asegura al parasitólogo que las etapas de diagnóstico de parásitos intestinales, si están presentes en la materia fecal, se conservarán.

## PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

El alcohol del reactivo (28%) en una solución de estabilización que contiene sulfato de zinc y alcohol polivinílico proporciona un conservador-fijador aceptable para quistes y trofocitos de protozoarios. El portaobjetos permanente resultante es apto para los procedimientos de tinte comúnmente usados como de tricromo de Wheatley o hematoxilina de hierro.<sup>24, 13</sup> Las muestras conservadas en formalina al 10% se pueden examinar directamente o se pueden concentrar para la recuperación de huevos, larvas y quistes de protozoarios.

## REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

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

Cada equipo consiste de un frasquito que contiene 15 mL de fijador Zn-PVA y un frasquito que contiene 15 mL de conservador de formalina al 10%. También hay disponibles cajas de un solo frasquito. Se incluyen también instrucciones sencillas para pacientes y personal de enfermería en diez idiomas.

## Catálogo# 901012

Zn-PVA (artículo# 9012)

## MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Acetato de etilo (sugerido) u otro (opcional)
2. Solución salina fisiológica
3. Solución de sulfato de zinc
4. Aplicadores con punta de algodón
5. Portaobjetos y cubreobjetos para microscopio
6. Aparato de centrifugado
7. Microscopio
8. Pipetas de transferencia

## PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. Evite el contacto de las soluciones fijadoras con la piel y los ojos. En caso de haber contacto, lave con un chorro de agua continuo. En caso de irritación, consulte a un médico.
3. Las soluciones fijadoras son venenosas. En caso de ingestión, llame a un médico inmediatamente.
4. Debido a la naturaleza infecciosa de la materia fecal sin conservar, deberá tener cuidado y lavarse las manos cuando obtenga y manipule la muestra.
5. La formalina es un peligro potencial de cáncer.
6. Zn-PVA es inflamable.
7. 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.
8. IMPORTANTE: Consulte la FDS para obtener información adicional sobre la seguridad y los riesgos.

## DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

|                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Para-Pak Zn-PVA Fixative</p> | <p><b>Palabras de advertencia</b></p> <p>PELIGRO</p> <p><b>indicaciones de peligro</b></p> <p>H302 - Nocivo en caso de ingestión</p> <p>H411 - Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos</p> <p>H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves</p> <p>H330 - Mortal en caso de inhalación</p> <p>H350 - Puede provocar cáncer</p> <p>H225 - Líquido y vapores muy inflamables</p> <p>Contiene Sulfato de cinc, Alcohol metílico, Alcohol isopropílico, Ácido acético</p> <p><b>Consejos de prudencia - UE (§28, 1272/2008)</b></p> <p>P280 - Llevar gafas/ máscara de protección</p> <p>P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado</p> <p>P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico</p> <p>P210 - Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar</p> <p>P370 + P378 - En caso de incendio: Utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción</p> <p>P304 + P340 - EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar</p> <p>P403 + P233 - Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente</p> <p>P260 - No respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol</p> <p>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</p> <p>P201 - Solicitar instrucciones especiales antes del uso</p> <p>P281 - Utilizar el equipo de protección individual obligatorio</p> <p>P308 + P313 - EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico</p> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La vida de anaquel de los sistemas Para-Pak se indica en la etiqueta del empaque exterior. Almacene a temperatura ambiente (15 a 30 C). Se deben evitar temperaturas extremas.

## RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Se debe advertir al paciente que no use antiácidos, bario, bismuto, medicamento antidiarreico, o laxantes aceitosos antes de la recolección de la muestra.
2. Para asegurar la recuperación de elementos parasitarios que se pasan intermitentemente y en cantidades fluctuantes, se deben examinar tres muestras espaciadas varios días. En caso de pacientes hospitalizados, se sugiere que se recolecten todas las evacuaciones fecales por un lapso determinado para evitar prolongar la estancia en el hospital.<sup>5,9</sup>
3. Lo ideal es pasar la muestra a un orinal pero no debe contaminarse con orina. De forma alternativa, se puede colocar una envoltura de plástico en la apertura del asiento del inodoro y pasar la muestra a la bolsa. También se puede utilizar un envase de cartón de leche, limpiado y secado minuciosamente, y con los dos tercios superiores del envase cortados. Será más fácil recolectar la muestra si el suministro de agua al inodoro está cerrado y drenando el agua de la taza.
4. Se debe seleccionar un área adecuada de materia fecal (por ej., con sangre, babosa, acuosa) y tomar una muestra usando las cucharas de recolección provistas en las tapas de los frascos. Se añade una cantidad suficiente de materia fecal a cada frasco hasta que el nivel del líquido suba a la línea "Llenar hasta aquí". Esto dará un resultado de aproximadamente 5 mL de muestra. Para asegurar una recolección de muestra óptima de un pedazo de materia fecal formada, el material se debe obtener de los lados, de los extremos y del centro del bolo.
5. Agite cada muestra con la cuchara por los lados del frasco, apriete bien la tapa y agite firmemente para asegurar que la muestra esté bien mezclada. Cuando se complete la mezcla, la muestra debe verse homogénea.
6. Llene la etiqueta de cada frasco según corresponda. Regrese los frascos a la bolsa de plástico hermética y ciérrela.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Los sistemas Para-Pak permiten una amplia variedad de procedimientos de uso común. La discusión siguiente no es exhaustiva y se pueden encontrar alternativas en el material impreso citado. Aunque existen variaciones de un laboratorio a otro, un análisis completo deberá incluir por lo menos los siguientes cuatro pasos:

1. Análisis grueso: récord de la presencia de sangre, gusanos, moco o proglótidos.
2. Análisis microscópico directo de la muestra conservada con formalina al 10%:
  - a. Coloque un portaobjetos de vidrio limpio sobre una hoja de periódico.
  - b. Añada una gota de solución salina al portaobjetos (se puede sustituir por yodo si se desea).
  - c. Añada una muestra representativa de la muestra conservada en formalina a la gota de solución salina y mezcle muy bien con la cuchara de recolección. El periódico debe ser legible a través del portaobjetos.
  - d. Coloque un cubreobjetos de doble ancho en la suspensión y examine inmediatamente.
3. Realice la fijación permanente de los portaobjetos para el tñido con colorante de tricromo de Wheatley (Nº de catálogo Meridian 400101), hematoxilina de hierro, etc.:
  - a. Vierta un poco del material fijo en Zn-PVA en una servilleta de papel y deje reposar aproximadamente tres minutos. Esto absorberá el exceso de PVA y se considera crítico para obtener el mejor tñido posible.<sup>8</sup>  
**NOTA:** No permita que el material fijo se absorba completamente en la servilleta de papel.
  - b. Utilizando un aplicador o cepillo, extienda (evite untar) un poco de la muestra de la servilleta de papel en uno o más portaobjetos de vidrio limpios. Para que se adhiera mejor, extienda el material hasta el borde del portaobjetos.
  - c. Los portaobjetos se secan toda la noche a temperatura ambiente o durante varias horas en una incubadora o calentador de portaobjetos a 37 C. El secado acelerado puede causar algo de distorsión morfológica. Los portaobjetos deben secarse completamente para evitar eliminar la película durante el tñido.
  - d. Una vez que los portaobjetos preparados en Zn-PVA se hayan secado completamente, se puede iniciar el tñido colocando los portaobjetos directamente en el colorante de tricromo.
  - e. Procedimiento de tñido:

|                                                                         |                      |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 1) Tñido de tricromo                                                    | 6-8 minutos          |
| 2) Alcohol acidificado al 90%                                           | 2 sumergidas rápidas |
| 3) Alcohol al 95%                                                       | sumergir dos veces   |
| 4) Alcohol al 95%                                                       | 5 minutos            |
| 5) Etanol al 100% o carbol-xileno                                       | 10 minutos           |
| 6) Xileno                                                               | 10 minutos           |
| 7) Monte con cubreobjetos utilizando el medio de montaje de su elección |                      |

  
\*Publicación de ASM de Manual de Microbiología Clínica (Nota: Otros procedimientos de tñido con tricromo han demostrado ser compatibles con Para-Pak).
4. Procedimientos de concentración para formalina al 10%: Se deberán emplear uno o más procedimientos de concentración. Ningún procedimiento de concentración funciona igual de bien para todos los parásitos;<sup>1,5,11</sup> sin embargo, dos que son aptos en el uso común para usarse con los sistemas Para-Pak son:
  - A. Sedimentación de formalina-éter (acetato de etilo<sup>7,14</sup>):
    1. Mezcle completamente la muestra de formalina al 10%. Ahora la muestra está lista para procesarse con los sistemas de concentración de materia fecal Para-Pak Macro-Con o CON-Trate. Consulte instrucciones adicionales en la hoja inserta correspondiente del empaque.  
Si no se tiene disponible Para-Pak Macro-Con o CON-Trate, se debe tamizar una cantidad suficiente de muestra en un tubo centrífugo cónico de 15 mL a través de una capa de malla angosta o dos capas de malla de gasa ancha para proporcionar 1.0 mL de sedimento. Esta cantidad variará según el tamaño y la densidad de la muestra.
    2. Añada aproximadamente de 6 a 8 mL de formalina al 10% (o solución salina), mezcle completamente y deje reposar cinco minutos.
    3. Añada 3 mL de acetato de etilo o éter, luego coloque el tapón y agite el tubo vigorosamente por lo menos 30 segundos. Quite el tapón con cuidado.
    4. Centrifugue diez minutos a 500 xg (1800-2200 rpm para la mayoría de los aparatos de centrifugado de mesa).
    5. Se podrán apreciar cuatro capas:
      - a. Capa superior: acetato de etilo o éter
      - b. Segunda capa: tapón de desechos
      - c. Tercera capa: formalina
      - d. Capa inferior: sedimento
    6. Después de circundar el tapón de desechos de los lados del tubo con un aplicador, decante con cuidado las tres capas superiores. Con el tubo invertido, se puede usar un aplicador con punta de algodón para quitar el exceso de desecho pegado a los lados del tubo. Esto es particularmente importante para obtener resultados adecuados con el acetato de etilo e impedir burbujas de solvente en el montaje mojado.
    7. Añada unas cuantas gotas de solución salina fisiológica o formalina al 10% para resuspender el sedimento remanente. Si los portaobjetos resultantes son demasiado densos (el periódico debe ser legible a través de ellos) se puede añadir más solución salina o formalina.
    8. Se sugieren montajes de yodo y solución salina para el análisis microscópico.  
**NOTA:** Raras veces una muestra puede ser extremadamente gruesa o mucosa y necesite un lavado preliminar. El lavado, en solución salina fisiológica o agua de la llave, se puede implementar entre los pasos 1e y 2. El material lavado debe centrifugarse como se indica en el paso 4.
  - B. Flotación de sulfato de zinc:
    1. Mezcle completamente una porción representativa de la suspensión de materia fecal en formalina al 10% o de muestra **fresca** sin conservar en un tubo centrífugo de 15 mL y añada la cantidad necesaria de agua de la llave para llevar a aproximadamente de 10 a 12 mL. La cantidad de muestra que se debe usar variará según su tamaño y densidad.
    2. Centrifugue un minuto a 1000-1200 xg.
    3. Si el sedimento tiene un volumen aproximado de un mililitro, decante el líquido supernadante. De otra manera, ajuste la densidad de la suspensión añadiendo material de la suspensión de formalina al 10% o diluyendo con más agua. Si fue necesario hacer un ajuste del sedimento, o si la materia fecal es muy aceitosa, repita el procedimiento de lavado.
    4. Cuando utilice muestras formalinizadas, la gravedad específica de la solución de sulfato de zinc se debe ajustar a 1,2.<sup>1,5</sup> Llene el tubo hasta más o menos la mitad con solución de sulfato de zinc y vuelva a suspender el sedimento mezclando completamente con los aplicadores.
    5. Añada solución adicional de sulfato de zinc hasta llegar a una pulgada antes del tope.
    6. Centrifugue un minuto a 1000-1200 xg.
    7. Retire cuidadosamente el tubo del aparato de centrifugado y, evitando la agitación, colóquelo en posición recta en un bastidor para tubos de ensayo u otro soporte adecuado.
    8. Llene el tubo con cuidado hasta el borde con solución de sulfato de zinc. No permita que se sobrellene.
    9. Ahora se puede colocar un cubreobjetos limpio en la parte superior del tubo. Si el cubreobjetos no hace contacto con el menisco del líquido, añada cuidadosamente más solución de sulfato de zinc hasta que haga contacto.
    10. No perturbe el tubo ni el cubreobjetos durante diez minutos.

11. Con un movimiento rápido y hábil, retire el cubreobjetos en dirección recta hacia arriba, de manera que una gota de líquido que contenga huevos y quistes se adhiera al centro del cubreobjetos.
12. Ahora el cubreobjetos se puede colocar en un portaobjetos de vidrio limpio. Si se desea un montaje de yodo, coloque una pequeña cantidad de yodo en el portaobjetos antes de acomodar el cubreobjetos. Sellar el borde del portaobjetos con Vaspar (mezcla de vaselina/parafina (1:1)) impedirá el secado y la distorsión de los huevos más grandes.

#### **CONTROL DE CALIDAD**

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

1. Inspección visual: los frasquitos de Zn-PVA deben contener aproximadamente 15 mL de líquido transparente, para asegurar una proporción de 1:3 de materia fecal a conservador.
2. Si se gelifica, el fijador se puede licuar colocándolo en un baño de agua a 50 C hasta que se aclare y se licue.
3. Cuando se tiñe una película fija en PVA de trofocitos de una colonia o cubierta amarilla humana, los organismos o células deberán verse bien fijos y definidos.

**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.**

## **Para-Pak® Systeme** **Zum Gebrauch mit Zn-PVA und Formalin**

PatentNr. 5624554

**REF** 901012**IVD****Rx Only**

### **VERWENDUNGSZWECK**

Zn-PVA enthaltende Para-Pak Systeme dienen standardisierten, routinemäßigen Verfahren für die Gewinnung, den Transport und die Konservierung von Stuhlproben sowie deren Untersuchung auf Darmparasiten. Die Anwendung der Systeme ist einfach. Sie können von Personen ohne Schulung in mikrobiologischen Verfahren verwendet werden. Die Fixierungsmittel sind außerdem ausgezeichnete Mittel zur Minimierung von Veränderungen, zu denen es kommen kann, wenn sich der Transport verzögert.

### **ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS**

Darmparasiten werden durch Auffinden und Identifizierung von Wurmeiern und -larven bzw. von Trophozoiten und Protozoen-Zysten im klinischen Parasitologie-Laboratorium nachgewiesen. Eine zeitgerechte Gewinnung und ein rascher Transport "frischer" Stuhlproben zum Laboratorium können nicht immer garantiert werden. Übermäßige Belastungen des Personals und Prioritäten in klinischen Laboratorien verhindern oft eine sofortige Untersuchung der "frischen" Proben. Bei Behandlungen der Proben wie z.B. Inkubation, Kühlung oder Einfrieren kann nicht garantiert werden, dass alle diagnostischen Parasitenstadien nachgewiesen werden können.<sup>5, 6, 8, 9, 11, 12</sup> 1949 beschrieben Brooke und Goldman die Anwendung von PVA-Fixierungsmittel zur Konservierung von intestinalen Protozoen. Die Wirksamkeit der Zwei-Fläschchen-Methode (PVA/10% Formalin) beim Transport und zur Konservierung von Stuhlproben wurde seither von zahlreichen Autoren bestätigt.<sup>2-6, 8, 9</sup> Der Parasitologe kann daher annehmen, dass die diagnostischen Stadien der Darmparasiten, sofern sie vorhanden sind, bei richtiger Anwendung des Para-Pak Systems erhalten bleiben.

### **BIOLOGISCHE PRINZIPIEN**

Alkohol (28%) in einer stabilisierenden Lösung mit Zinksulfat und Polyvinylalkohol ist ein akzeptables Konservierungs- und Fixierungsmittel für Trophozoiten und Protozoen-Zysten. Das permanente Präparat kann mit üblichen Methoden wie Wheatley-Trichrom oder Eisen-Hämatoxylin gefärbt werden.<sup>2-4, 13</sup> Mit 10% Formalin konservierte Proben können zum Auffinden von Eiern, Larven und Protozoen-Zysten direkt untersucht oder konzentriert werden.

### **REAGENZIE/ENTHALTENE MATERIALIEN**

Jedes Kit besteht aus einem Fläschchen mit 15 mL Zn-PVA-Fixierungsmittel und einem Fläschchen mit 15 mL 10% Formalin enthaltendem Konservierungsmittel (10%). Packungen mit einem der Fläschchen sind auch erhältlich. Die Packung enthält außerdem einfache Anleitungen für Patienten und Pflegepersonal in 10 Sprachen.

### **Catalog# 901012**

Zn-PVA (item# 9012)

### **BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN**

1. Äthylacetat (empfohlen) oder Äther (Alternative)
2. Physiologische Kochsalzlosung
3. Zinksulfatlösung
4. Applikator-Wattestäbchen
5. Objektträger und Deckgläser
6. Zentrifuge
7. Mikroskop
8. Transferpipetten

### **VORSICHTSMASSNAHMEN**

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Kontakt von Fixierungsmittels mit Haut und Augen vermeiden. Bei Kontakt mit fließendem Wasser spülen. Bei Auftreten einer Irritation einen Arzt aufsuchen.
3. Fixierungsmittel sind giftig. Wenn sie geschluckt werden, rufen Sie sofort einen Arzt an.
4. Da nicht konservierter Stuhl infektiös sein kann, sollte bei der Probegewinnung und -handhabung vorsichtig vorgegangen werden. Danach Hände waschen.
5. Formalin ist potentiell karzinogen.
6. Zn-PVA ist brennbar.
7. 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.
8. WICHTIG: Weitere Sicherheits- und Gefahrenhinweise sind im SDB enthalten.

|                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <p>Para-Pak Zn-PVA Fixative</p> | <p><b>SIGNALWORT</b><br/>Gefahr</p> <p><b>Gefahrenhinweise</b><br/>H302 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken<br/>H411 - Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung<br/>H314 - Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden<br/>H330 - Lebensgefahr bei Einatmen<br/>H350 - Kann Krebs erzeugen<br/>H225 - Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar<br/>Enthält Zinksulfat, Methanol, Propan-2-ol, Essigsäure</p> <p><b>Sicherheitshinweise - Verordnung (EG) §28, Nr. 1272/2008</b><br/>P280 - Augenschutz/Gesichtsschutz tragen<br/>P305 + P351 + P338 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen<br/>P310 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen<br/>P210 - Von Hitze/Funken/offenen Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen<br/>P370 + P378 - Bei Brand: Trocken Sand, Trockenlöschpulver oder alkoholbeständigen Schaum zum Löschen verwenden<br/>P304 + P340 - BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert<br/>P403 + P233 - An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Behälter dicht verschlossen halten<br/>P260 - Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen<br/>P303 + P361 + P353 - BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/ duschen.<br/>P201 - Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen<br/>P281 - Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden<br/>P308 + P313 - BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

#### HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Para-Pak Systems ist auf der äußeren Packung angegeben. Bei Raumtemperatur (15-30 C) lagern. Extreme Hitze oder Kälte sollte vermieden werden.

#### PROBENNAHME UND- VORBEREITUNG

- Der Patient sollte angewiesen werden, vor Gewinnung der Probe keine Antazida, kein Barium oder Wismut, keine Mittel gegen Durchfall oder öbliche Abführmittel zu sich zu nehmen.
- Zum sicheren Nachweis von Parasiten in verschiedenen Stadien, die intermittierend und in verschiedener Zahl ausgeschieden werden, müssen drei Proben im Abstand von jeweils einigen Tagen untersucht werden. Bei hospitalisierten Patienten wird empfohlen, eine bestimmte Zeitperiode für die Entnahme von Stuhlproben festzulegen, um den Krankenhausaufenthalt nicht zu verlängern.<sup>5,9</sup>
- Idealerweise wird die Stuhlprobe in eine Bettpfanne abgesetzt. Sie darf nicht mit Urin vermischt werden. U.U. kann auch ein Plastiksack oder Plastikfolie über die Toilette gelegt und der Stuhl in diese abgesetzt werden. Man kann ev. auch einen gut gereinigten und getrockneten Milchkarton, von dem die oberen zwei Drittel abgeschnitten wurden, verwenden. Die Probengewinnung ist leichter, wenn das Wasser zur Toilette abgestellt und das Wasser aus dem Toilettenbecken durch zweimaliges Spülen abgelassen wird.
- Wenn vorhanden, sollte eine blutige, schleimige oder wässrige Stuhlprobe mit dem Entnahmelöffel, der sich im Verschluss des Fläschchens befindet, entnommen werden. Genügend Stuhl in das Fläschchen füllen, so dass das Flüssigkeitsniveaus bis zur Markierung "Bis hierher füllen" ansteigt. Dies ergibt ein Volumen von ca. 5 mL. Bei festem Stuhl sollten Proben von den Seiten, Enden und der Mitte entnommen werden.
- Mit dem Löffel den Stuhl von den Wänden des Fläschchens lösen, das Fläschchen fest verschließen und gut schütteln, damit die Probe gut gemischt wird. Die Probe sollte nach dem Mischen homogen sein.
- Alle Fläschchen richtig beschriften. Die Fläschchen in den Beutel mit Reißverschluss zurückgeben und den Beutel verschließen.

#### TESTDURCHFÜHRUNG

Die Para-Pak Systeme bei zahlreichen verschiedenen routinemäßigen Verfahren angewendet werden. Die folgende Beschreibung ist nicht vollständig. Alternative Methoden aus der Literatur können ebenfalls angewendet werden. Obwohl sich the Methoden verschiedener Laboratorien voneinander unterscheiden, sollte eine eingehende Untersuchung mindestens folgende vier Schritte enthalten:

- Makroskopische Untersuchung auf Blut, Würmer, Schleim und Bandwurmglieder.
- Direkte histologische Untersuchung der mit 10% Formalin konservierten Probe:
  - Einen sauberen Objektträger auf ein Stück Zeitungspapier legen.
  - Einen Tropfen Kochsalzlösung (oder Jod) auf den Objektträger übertragen.
  - Einen genügend großen Teil der mit Formalin konservierten Probe dem Kochsalztropfen beifügen und mit dem Entnahmelöffel gut mischen. Der Zeitungsdruck sollte durch das Präparat gerade noch gelesen werden können.
  - Ein doppelt breites Deckglas auf die Suspension legen und sofort untersuchen.
- Permanente Präparate zur Färbung mit Wheatley-Trichrom (Meridian-Bestellnummer 400101), Eisen-Hämatoxylin, etc.:
  - Eine kleine Menge des mit Zn-PVA fixierten Materials auf ein Papierhandtuch schütten und ca. 3 Minuten stehen lassen. Dabei wird überschüssiges PVA absorbiert, was als wichtig für eine gute Färbung angesehen wird.<sup>8</sup>  
**HINWEIS:** Das fixierte Material sollte nicht vollständig vom Papierhandtuch absorbiert werden.
  - Mit einem Applikatorstäbchen oder einer Bürste einen Teil der Probe vom Papierhandtuch auf einen oder mehrere Objektträger übertragen (nicht verschmieren). Durch Ausstreichen des Materials bis zu den Rändern des Objektträgers wird die Adhärenz verbessert.
  - Die Präparate über Nacht bei Raumtemperatur oder einige Stunden im Inkubator bei 37 C bzw. auf einem Objektträgerwärmer trocknen lassen. Bei zu raschem Trocknen kann es zu morphologischen Veränderungen kommen. Die Präparate müssen gut getrocknet werden, um ein Wegwaschen des Films beim Färben zu vermeiden.
  - Wenn die mit Zn-PVA hergestellten Präparate vollständig trocken sind, kann mit der Färbung begonnen werden. Die Präparate werden in Trichrom eingelegt.
  - Färben:\*
    - Trichrom 6-8 Minuten
    - 90% Alkohol, angesäuert zweimal kurz eintauchen.
    - 95% Alkohol zweimal eintauchen
    - 95% Alkohol 5 Minuten
    - 100% Äthanol oder Carbolxyol 10 Minuten
    - Xylol 10 Minuten
    - Ein Einbettmittel Ihrer Wahl auftragen und ein Deckglas auflegen.

\*Manual of Clinical Microbiology, Publikation der ASM (American Society for Microbiology), (Hinweis: Andere Trichrom-Färbemethoden sind ebenfalls mit Para-Pak kompatibel).

4. Konzentrierung bei Verwendung von 10% Formalin: Mindestens ein Konzentrierungsverfahren sollte durchgeführt werden. Mit keiner der Methoden können alle Parasiten gleich gut nachgewiesen werden.<sup>1,5,11</sup> Die folgenden zwei Methoden können jedoch ohne Schwierigkeiten mit den Para-Pak Systemen angewendet werden:
  - A. Formalin-Ather-(Äthylacetat<sup>7,14</sup>) – Sedimentierung:
    1. Die mit 10% Formalin konservierte Probe gut mischen. Die Probe kann jetzt mit dem Para-Pak Macro-Con- oder dem CON-Trate-Stuhlkonzentrierungssystem verarbeitet werden. Weitere Anleitungen finden Sie in der Packungsbeilage.  
Wenn Para-Pak Macro-Con bzw. CON-Trate nicht zur Verfügung steht, muss eine ausreichende Menge der Probe durch eine Lage engmaschige Gaze oder zwei Lagen grobmaschige Gaze in ein konisches 15-mL-Zentrifugenröhrchen geseiht werden, so dass 1,0 mL Sediment erhalten wird. Die Menge variiert und hängt von der Größe und Dichte der Probe ab.
    2. Ca. 6-8 mL 10% Formalin (oder Kochsalzlösung) beifügen, gründlich mischen und 5 Minuten stehen lassen.
    3. 3 mL Äthylacetat oder Äther beifügen, mit dem Stöpsel verschließen und ca. 30 Sekunden heftig schütteln. Den Stöpsel vorsichtig entfernen.
    4. 10 Minuten bei 500 xg (1800-2200 UPM für die meisten Tischzentrifugen) zentrifugieren.
    5. Vier Schichten können jetzt unterschieden werden:
      - a. Oberste Schicht: Äthylacetat oder Äther
      - b. Zweite Schicht: Stuhlbestandteile
      - c. Dritte Schicht: Formalin
      - d. Unterste Schicht: Sediment
    6. Stuhlbestandteile mit dem Applikatorstäbchen von der Wand des Röhrchens lösen und vorsichtig die drei oberen Schichten abgießen. Das Röhrchen umgedreht halten und mit einem Wattebäuschen an der Wand des Röhrchens angelegte Stuhlbestandteile lösen. Dies ist besonders wichtig, um geeignete Resultate mit Äthylacetat zu erhalten und Blasen im Einbettmittel zu vermeiden.
    7. Einige Tropfen physiologische Kochsalzlösung oder 10% Formalin beifügen, um das zurückgebliebene Sediment nochmals zu suspendieren. Wenn das Material zu dick auf den Objektträger aufgetragen wurde (Zeitungsdruck kann nicht durch das Präparat gelesen werden), kann noch etwas Kochsalzlösung oder Formalin beigelegt werden.
    8. Zur histologischen Untersuchung wird Jod oder Kochsalzlösung als Einbettmittel empfohlen.  
**Hinweis:** Manchmal ist eine Probe besonders dick oder schleimig. In diesem Fall sollte ein Waschvorgang mit physiologischer Kochsalzlösung oder Leitungswasser zwischen den Schritten 1e und 2 durchgeführt werden. Das gewaschene Material sollte wie in Schritt 4 zentrifugiert werden.
  - B. Zinksulfat-Flotation:
    1. Einen genügend großen Teil der mit 10% Formalin konservierten Stuhlprobe oder eine **frische** nicht konservierte Probe in einem 15 mL-Zentrifugenröhrchen gut mischen und Wasser bis zu ca. 10-12 mL auffüllen. Die Menge der Probe hängt von der Größe und Dichte ab.
    2. Eine Minute bei 1000-1200 xg zentrifugieren.
    3. Wenn das Sedimentvolumen ca. 1 mL beträgt, den Überstand abgießen. Wenn dies nicht der Fall ist, die Dichte der Suspension durch Beifügen der Suspension mit 10% Formalin oder Verdünnen mit Wasser entsprechend ändern. Wenn eine derartige Änderung nötig oder der Stuhl sehr ölig ist, den Waschvorgang wiederholen.
    4. Bei Verwendung von Proben in Formalin muss das spezifische Gewicht der Zinksulfatlösung 1,2 betragen.<sup>1,5</sup> Das Röhrchen ca. bis zur Hälfte mit der Zinksulfatlösung füllen und das Sediment durch gründliches Mischen mit den Applikatorstäbchen nochmals suspendieren.
    5. Mit Zinksulfatlösung so weit auffüllen, dass das Röhrchen bis auf die obersten 2,5 cm gefüllt ist.
    6. Eine Minute bei 1000-1200 xg zentrifugieren.
    7. Das Röhrchen vorsichtig aus der Zentrifuge nehmen, wobei ein Mischen vermieden werden sollte. Aufrecht auf einen Röhrchenständer oder einen anderen geeigneten Ständer stellen.
    8. Das Röhrchen vorsichtig bis zum Rand mit Zinksulfatlösung auffüllen. Nicht überfließen lassen.
    9. Das Röhrchen kann jetzt mit einem sauberen Deckglas verschlossen werden. Wenn das Deckglas den Meniskus der Flüssigkeit nicht berührt, noch etwas Zinksulfat beifügen.
    10. Röhrchen und Deckglas 10 Minuten lang nicht berühren.
    11. Mit einer raschen, geschickten Bewegung das Deckglas abheben, so dass ein Flüssigkeitstropfen, der Eier oder Zysten enthält, in der Mitte des Deckglases hängen bleibt.
    12. Das Deckglas kann jetzt auf einen sauberen Objektträger aus Glas gelegt werden. Wenn Sie Jod als Einbettmittel verwenden wollen, einen kleinen Tropfen Jod vor der Platzierung des Deckglases auf den Objektträger übertragen. Versiegein der Ränder mit Vaspar (Vaselin/Paraffin (1:1)) verhindert ein Austrocknen und eine Formänderung größerer Eier.

#### QUALITÄTSKONTROLLE

**Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.**

1. Visuelle Untersuchung: Die Fläschchen mit Zn-PVA sollten ca. 15 mL einer klaren Flüssigkeit enthalten, um bei der Konservierung ein Verhältnis von Stuhl: Konservierungsmittel = 1:3 zu garantieren.
2. Bei Gelierung kann das Fixierungsmittel verflüssigt werden. Zu diesem Zweck wird es in ein Wasserbad (50 C) gestellt und dort belassen, bis es klar und flüssig ist.
3. Bei Färbung eines mit PVA behandelten, für Prüfzwecke gelagerten Trophozoitenfilms oder einer humanen Leukozytenmanschette, sollten die Organismen bzw. Zellen gut fixiert werden und deutlich zu sehen sein.

**Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, wiederholen Sie zur Ermittlung der Fehlerquelle als Erstes die Kontrolltests. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.**

#### REFERENCES

1. Bartlett, Marilyn, et al. Comparative evaluation of a modified zinc sulfate flotation technique. J Clin Microbiol 1978;7:524-528.
2. Brook, MM and M. Goldman. Polyvinyl alcohol fixative as a preservative and adhesive for protozoa in dysenteric stools, and other liquid materials. J Lab and Clin Med 34: 1944;1554-1560.
3. Brooke, MM and Norman C. The effectiveness of the PVA fixative technique in revealing intestinal amebae in diagnostic cultures. Am J Trop Med Hyg 1955;4:479-482.
4. Brook, MM. PVA fixative technique in laboratory confirmation of amebiasis. Triangle 1960;4:326-335.
5. Brooke, MM. "Intestinal and Urogenital Protozoa" in Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, D.C., 2<sup>nd</sup> ed., 1974;582-601.
6. Burrows, RB. *Microscopic Diagnosis of the Parasites of Man*, Yale University Press, New Haven, 1965.
7. Erdman, Dean 1981. Clinical comparison of ethyl acetate and diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. J Clin Microbiol 14:483-485.
8. Garcia, LS. and L. Ash. *Diagnostic Parasitology*, C.V. Mosby Co., St. Louis, 1979;pp 9-24.
9. Harper, K. et al. Advantages of the PVA fixative two-bottle stool collection technique in the detection and Identification of intestinal parasites. Pub Health Lab 1957;15:96-108.
10. Horen, WP. Modification of Schaudin's fixative. J Clin Microbiol 1981;13:204-205.
11. Scholten, TH. and J. Yang. Evaluation of unpreserved and preserved stools for the detection and identification of intestinal parasites. Am J Clin Path 1974;62:563-567.
12. Swartzwalder, J. Clyde, GW. Hunter, WW. Frye. *Manual of Tropical Medicine*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1966.
13. Simitch, T. and Z. Petrovich. Longevité de la forme vegetive de dysenterioe dans divers rñeaux. Arch Int Pasteur d'Algerie 1953;31:375-380.
14. Young, Kirk H. et al. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. J Clin Microbiol. 1979;10:852-853.



SN10715

REV. 11/25

|                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br><b>Manufactured By</b>                | <p>Meridian Bioscience, Inc.<br/> 3471 River Hills Drive<br/> Cincinnati, OHIO - 45244 USA<br/> <a href="http://www.meridianbioscience.com">www.meridianbioscience.com</a></p> <p><u>Contacts:</u><br/> Main Telephone (+1) 513.271.3700<br/> Customer Service/Orders 800.543.1980<br/> Technical Support Center 800.343.3858<br/> Information Fax: 513.272.5432<br/> Ordering Fax: 513.271.0124<br/> E-mail: <a href="mailto:info@meridianbioscience.com">info@meridianbioscience.com</a></p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <div data-bbox="469 577 654 632" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> EC    REP </div>   | <p>Meridian Bioscience Europe, SRL<br/> Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese<br/> (Milano) ITALY<br/> <a href="http://www.meridianbioscience.com">www.meridianbioscience.com</a></p> <p><u>Contacts:</u><br/> Main Telephone (+39) 0331.433636<br/> E-mail: <a href="mailto:info@meridianbioscience.eu">info@meridianbioscience.eu</a><br/> Technical Support: <a href="mailto:MBE-TechService@meridianbioscience.eu">MBE-TechService@meridianbioscience.eu</a><br/> Customer Service/Orders:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• For Italian Customers:<br/> <a href="mailto:ordini@meridianbioscience.com">ordini@meridianbioscience.com</a></li> <li>• For Distributors / International Customers:<br/> <a href="mailto:Export.CustomerService@meridianbioscience.eu">Export.CustomerService@meridianbioscience.eu</a></li> </ul> |
| <b>AUSTRALIAN<br/>SPONSOR</b>                                                                                              | <p>Emergo Australia<br/> Level 20, Tower II<br/> Darling Park<br/> 201 Sussex Street<br/> Sydney, NSW 2000<br/> Australia</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>UK Authorised<br/>Representative</b>                                                                                    | <p>Launch Diagnostics Limited<br/> Lakeview West<br/> Crossways Business Park<br/> Galleon Boulevard<br/> Dartford<br/> Kent DA2 6QE<br/> United Kingdom</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <div data-bbox="444 1163 738 1247" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;"> CH    REP </div> | <p><b>MedEnvoy Switzerland</b><br/> Gotthardstrasse 28<br/> 6302 Zug<br/> Switzerland</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |



## 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, Guia de símbolos, Zeichenerklärung)

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <b>CONTROL +</b>                                                                    | Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>LOT</b>                                                                          | Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / chargenbezeichnung                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <b>CONTROL -</b>                                                                    | Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>IVD</b>                                                                          | 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | <b>EC REP</b>                                                                       | 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 | <b>SMP PREP DIL SPE</b>                                                             | 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 |
| <b>REF</b>                                                                          | 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <b>BUF RXN</b>                                                                      | 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>SOLN STOP</b>                                                                    | Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung                                                                                                                                                                                                                                                           |
|   | Temperature limitaiton / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>CONJ ENZ</b>                                                                     | Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / enzymkonjugat                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>SN</b>                                                                           | Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>CONTROL</b>                                                                      | Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>TEST</b>                                                                         | Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgerät                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>REAG</b>                                                                         | Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|  | Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | <b>BUF WASH</b>                                                                     | Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>BUF</b>                                                                          | Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  | Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>CONJ</b>                                                                         | Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>DIL SPE</b>                                                                      | Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>SUBS</b>                                                                         | Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>BUF WASH 20X</b>                                                                 | Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione dil lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat                                                                                                                                                                                |
| <b>Rx Only</b>                                                                      | Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <b>DET REAG</b>                                                                     | 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>TUBE</b>                                                                         | 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                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>CH REP</b>                                                                       | 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.