

Para-Pak[®] Macro-CON[®]

Stool Concentration System

REF 970120

IVD

Rx Only

INTENDED USE

Para-Pak Macro-CON is a system for the concentration of eggs, larvae, and protozoa from preserved fecal specimens. The filtration unit is designed to be used directly with the Para-Pak specimen collection vial. This creates a **completely closed system**, minimizing exposure of the user to potentially infectious agents. **Macro-CON** concentration utilizes the entire contents of the Para-Pak specimen collection vial, reducing variation due to specimen sampling. This is of particular advantage to the clinical parasitologist when a small number of organisms may be present in a large volume of stool. Kit systems are designed for easy use by individuals not trained in microbiologic procedures.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Diagnosis of intestinal parasitic disease is confirmed by the recovery and identification of helminth eggs and larvae, or protozoan trophozoites and cysts. Concentration procedures facilitate this process and are of importance when small numbers of protozoa are present in large volumes of feces.^{1, 2, 4, 7, 8, 11, 13-15}

The Para-Pak Macro-CON System (patent # 4,675,110 June, 1987) exhibits several advantages over both the traditional gauze method and other available concentration devices. Fastening the concentrator directly to the patient specimen vial minimized user contamination by creating a closed system. The contents of the vial need never be directly manipulated by laboratory personnel. Concentration directly from the Para-Pak vial minimizes hands-on manipulation, facilitating rapid laboratory diagnosis.

Proper use of the Macro-CON filtration unit in conjunction with the Para-Pak specimen collection vial assures the parasitologist that diagnostic stages of intestinal parasites, if present in fecal material, will be concentrated.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The filtration unit consists of a 50 mL conical centrifuge tube capped with a flanged adapter incorporating a plastic mesh screen.

Preserved stool is first thoroughly mixed with a surfactant which helps reduce adhesive forces and break down fecal aggregates, thus freeing parasites.^{10, 14}

Filtering the specimen through the Macro-CON filter removes large clumps and debris. This is facilitated by the unique venting process which allows for air exchange between the tube and vial as the extracted material filters into the centrifuge tube. The simple design of Macro-CON insures trouble free performance and less clogging.

Emulsification of the sample with ethyl acetate extracts much of the fecal lipids.^{8, 15}

After centrifugation the lipid plug and excess ethyl acetate are decanted leaving a packed sediment enriched with parasite eggs, larvae, trophozoites and cysts.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

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

1. Conical centrifuge tubes (item# CS14375)
2. Macro-CON filtration units (item# CS4230)
3. Screw caps (item# CS2210A)
4. Bottle surfactant (item# 9601-02)

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Ethyl acetate (suggested) or diethyl ether (optional)
2. 10% formalin, or physiological saline
3. Cotton tipped applicator sticks
4. Microscope slides and coverslips
5. Centrifuge
6. Microscope
7. Capillary pipette
8. Sheather's sugar solution (optional)

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Ethyl acetate and diethyl ether are flammable. Use in a well ventilated area. Avoid open flame. Avoid contact of the solution with skin and eyes. Should contact occur, flush with running water. Avoid breathing fumes.
3. PVA fixative is corrosive for metals. Avoid contact with metals.
4. Due to the infectious nature of unpreserved stools, use of gloves, care and handwashing should be employed when the specimen is obtained and manipulated.
5. Para-Pak Macro-CON is designed specifically for use with the Para-Pak line for parasitology products. Proper product performance, especially a leak free fit to the patient specimen can only be assured when using the Para-Pak product line.
6. The Para-Pak Macro-CON is designed for use with the provided surfactant. Proper product performance can only be assured when following the concentration procedure outlined in the package insert.
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

 Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant	Signal word Warning Hazard Statements H302 - Harmful if swallowed Contains Polyethylene glycol 1,1,3,3-tetramethylbutylphenyl ether
---	---

SHELF LIFE AND STORAGE

The Macro-CON filtration components are stable for three years from date of manufacture, when stored at room temperature.

TEST PROCEDURE

Any specimen preserved in 10% formalin, sodium acetate acetic acid formalin (SAF), or polyvinyl alcohol (PVA) may be used. A procedure for the use of fresh stool is also described.^{5, 8, 13, 14}

The methodology is a modification of the Ritchie formalin-ether procedure.¹⁴

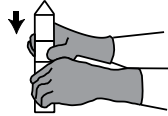
A. SPECIMEN COLLECTION

1. An appropriate specimen is of utmost importance in the diagnostic process.^{1-4, 8, 11} Para-Pak Macro-CON is designed specifically for use with the Para-Pak line of parasitology products (See Precautions #5). Collect the specimen as directed by the appropriate Para-Pak package insert supplied with the collection system.
2. The specimen must be well mixed in the preservative. The preservative-stool mixture must be allowed to stand for a minimum of 30 minutes at room temperature between the time of specimen collection and processing to ensure adequate fixation.
3. If a permanently stained smear is desired from Para-Pak SAF or LV-PVA preserved material, it is recommended that a portion of preserved stool be removed prior to concentration. The procedure for permanent staining can be found in the Para-Pak SAF or LV-PVA package insert.

B. SPECIMEN PREPARATION

1. Remove the cap from the patient specimen vial and add 10 drops of surfactant to the specimen vial. Replace the cap securely.
2. Shake vigorously for 60 seconds. Breakup of some formed or very mucoid specimens may be facilitated by vortexing.
3. Check that the 50 mL conical centrifuge tube is securely screwed onto the filtration unit. Remove the cap from the patient specimen vial and insert the open end of the Macro-CON filtration unit into the specimen vial, as shown in figure 1, with a gentle downward pressure until firmly seated.

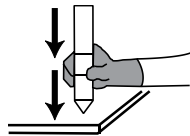
Figure 1



Insert filtration unit tightly into top of Para-Pak vial.

4. Invert the Macro-CON system, and allow the specimen to filter through the mesh into the 50 mL conical centrifuge tube, as shown in Figure 2. If the specimen is thick, the centrifuge tube may be tapped sharply on a table top to facilitate the flow of material through the mesh.

Figure 2



Tap sharply to force solution into conical tube.

5. Grasping the serrated collar, loosen BUT DO NOT REMOVE the filtration unit from the conical centrifuge tube. Allow the Macro-CON system to sit undisturbed for 60 seconds. This will release pressure in the system and effect better drainage of the filter.
6. Re-tighten the filtration unit onto the conical centrifuge tube and tap sharply two or three times to force any remaining liquid into the conical centrifuge tube.
7. Tilt the Macro-CON system to approximately 30 degrees from horizontal and unscrew the filtration unit completely from the conical centrifuge tube.
8. Discard the filtration unit/Para-Pak specimen vial using the procedures established in your laboratory for disposal of fecal specimens.
9. Add 10% formalin to bring the level of the filtered specimen to the dotted line on the Para-Pak Macro-CON label.
10. Add 5 mL of ethyl acetate (diethyl ether, optional) to the conical centrifuge tube. Place a provided screw cap on the centrifuge tube securely. (Note: do not use the screw cap from the original specimen container of leakage and contamination may result.)
11. Shake vigorously for 60 seconds. If using diethyl ether, loosen the cap on the conical centrifuge tube to release pressure prior to centrifugation.
12. Retighten the cap on the conical centrifuge tube and centrifuge for 10 minutes at 500 xg (1800-2200 rpm for most table top centrifuges).
13. Pour off the supernatant fluid and debris layer and **KEEP THE TUBE INVERTED**.
14. **KEEPING THE TUBE INVERTED**, clean the inner walls with one or two cotton tipped applicator sticks to remove any remaining debris and ethyl acetate (this may be omitted if using diethyl ether). **Allowing excess ethyl acetate to run back into the pelleted sediment will result in a poor wet mount preparation due to the formation of solvent bubbles.** The packed sediment at the bottom of the tube contains the parasitic elements.
15. Add a few drops of 10% formalin or physiological saline and mix the pelleted sediment. If a permanently stained slide is desired from Para-Pak LV-PVA concentrated material, the pellet should be resuspended in a few drops of LV-PVA. Allow sediment to settle for a minute.
16. The specimen for examination should be drawn with a 5-9 inch capillary pipette from the top half of the resuspended material. This portion contains the greatest number of parasites and avoids larger, denser particles which may interfere with wet mount preparation. Place 1-2 drops from the capillary pipette on a microscope slide, place a coverslip on the suspension and examine immediately. When a wet mount is made with the resuspended pellet, newspaper should be legible through the prepared slide.
17. If iodine staining is desired, place a single drop of Lugol's iodine from a capillary pipette on the slide, and add a drop of resuspended sediment. Place a coverslip on the suspension and examine immediately.
18. The remaining sediment may be used for *Cryptosporidium* and *Isospora belli* examination. Thin smears may be made for acid fast staining. Sheather's sugar flotation may also be performed.^{6, 9, 12, 16}

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 8 and 9. The washed material should be centrifuged as in step 12.

C. PROCEDURE FOR FRESH STOOL SPECIMENS

This procedure permits the concentration technique to be performed on a Para-Pak Clean vial specimen after amoeba culture, rearing of hook worm larvae, bacterial culture, occult blood, or stool fat examination.

3-5 g of stool is suitable for the addition of 15 mL of 10% formalin.

1. Add 15 mL of 10% formalin to the 3-5 g stool specimen in a Para-Pak Clean vial.
2. Mix the contents thoroughly.
3. Allow to stand at room temperature for 30 minutes to ensure adequate fixation.
4. Follow the procedure in Section B, Specimen Processing, Steps 1-18.

QUALITY CONTROL

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

Macro-CON filtration units should be free of any cracks. The mesh screen should be uniform in appearance.

The surfactant should be free of any bacterial or fungal contamination.

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.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical Data

Performance of the Para-Pak Macro-CON concentrator was evaluated by comparison to a common laboratory procedure in two separate locations. LV-PVA or 10% Formalin preserved specimens were concentrated using the Macro-CON system (MC) and a common laboratory procedure (CLP). After identifying the parasite or parasites present, each species was enumerated in each system.

The data are expressed as the number of times each organism was isolated. A range of counts, for each system, is also included.

In six cases only one system isolated an organism. In each case < 2 organisms per total coverslip were enumerated in the positive system.

ASSAY SPECIFICITY

IDENTIFICATION

	MC	RANGE	CLP	RANGE
<i>Ascaris lumbricoides</i>	24	16-390/CS	24	11-582/CS
<i>Giardia lamblia</i>	22	1/LPF-10+/HPF	22	.5/LPF-3/HPF
Hookworm	24	1-3.6 6/LPF	23	0-3.3/LPF
<i>Trichuris trichura</i>	20	0-100+/CS	23	1-100+/CS
<i>Entamoeba coli</i>	14	7/CS-25+/LPF	14	7/CS-20 LPF
<i>Endolimax nana</i>	9	.3-.9/HPF	9	2-5.2/HPF
<i>Entamoeba histolytica</i>	9	.6-13/HPF	9	.6-9/HPF
<i>Clinorchis sinensis</i>	6	4-50/CS	6	5-89/CS
<i>Strongyloides stercoralis</i>	5	0-15/CS	7	1-47/CS
<i>Hymenolepis nana</i>	7	15/CS-6.1/LPF	7	15/CS-19.8/LPF
<i>Taenia saginata</i>	4	1-248/CS	4	3-154/CS
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	.9-11/HPF	4	1.2-20/HPF
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	3-HPF	1	3/HPF
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	.3-5/HPF	6	.3-4.5/HPF
<i>Opisthorchis viverrini</i>	2	31-147/CS	2	25-186/CS
<i>Diphyllobothrium latum</i>	3	46-800+/CS	3	100-800+/CS
<i>Isospora belli</i>	1	15/HPF	1	15/HPF
<i>Entamoeba polecki</i>	1	3.1/LPF	1	2.3/LPF

High Powered Field (HPF)

Low Powered Field (LPF)

Coverslip (CS)

In a Midwestern clinical laboratory, diarrheic stool specimens submitted for procedures other than ova and parasite examination, were concentrated using the methods previously described. Of 25 specimens examined, all were negative using MC and CLP.

Para-Pak[®] Macro-CON[®]

Sistema per la Concentrazione Delle Feci

REF 970120

IVD

Rx Only

FINALITÀ D'USO

Para-Pak Macro-CON è un sistema per la concentrazione di uova, larve e protozoi provenienti da campioni fecali conservati. L'unità di filtraggio è progettata per essere utilizzata direttamente con la fiala di raccolta dei campioni Para-Pak. In questo modo si ottiene un **sistema competentemente chiuso**, riducendo al minimo l'esposizione dell'utente ad agenti potenzialmente infetti. **Macro-CON** utilizza l'intero contenuto della fiala di raccolta dei campioni Para-Pak, riducendo le variazioni dovute al campionamento. Ciò risulta particolarmente utile al parassitologo quando in una quantità elevata di feci è presente un piccolo numero di organismi. I kit sono progettati per consentire un facile utilizzo da parte di persone senza una formazione specifica nelle procedure microbiologiche.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La diagnosi di malattie parassitarie intestinali è confermata dal ritrovamento e dall'identificazione di uova e larve di elminti o trofozoiti e cisti di protozoi. Le procedure di concentrazione facilitano questo processo e assumono particolare rilievo quando in una quantità elevata di feci è presente un piccolo numero di protozoi.^{1, 2, 4, 7, 8, 11, 13-15}

Il sistema Para-Pak Macro-CON (num. Brevetto 4,675,110, giugno 1987) presenta numerosi vantaggi rispetto sia al metodo tradizionale con garza che ad altri dispositivi per la concentrazione. Fissando il dispositivo concentratore direttamente alla fiala di campionamento del paziente si riducono al minimo le possibilità di contaminazione dell'utente in quanto si ottiene un sistema chiuso. Il contenuto della fiala non sarà mai manipolato direttamente dal personale del laboratorio. Effettuando la concentrazione direttamente dalla fiala Para-Pak si riduce al minimo la manipolazione, agevolando una rapida diagnosi di laboratorio.

Un utilizzo adeguato dell'unità di filtraggio Macro-CON insieme alla fiala di raccolta dei campioni Para-Pak conferisce al parassitologo la certezza che gli stadi diagnostici dei parassiti intestinali, se presenti nel materiale fecale, verranno concentrati.

PRINCIPI BIOLOGICI

L'unità di filtraggio è composta da una provetta da centrifuga conica da 50 mL chiusa con un adattatore bordato contenente una protezione retiforme di plastica.

Le feci conservate vengono dapprima accuratamente mescolate con un surfattante, che consente di ridurre la forza adesiva e rompe gli aggregati fecali, liberando così i parassiti.^{10, 14}

Il filtraggio del campione attraverso il filtro Macro-CON rimuove grossi frammenti e detriti. Questa operazione è agevolata da un processo di ventilazione che consente lo scambio dell'aria fra la provetta e la fiala via via che il materiale estratto filtra nella provetta da centrifuga. La struttura semplice del Macro-CON garantisce un funzionamento senza ostacoli e intasature.

L'emulsificazione del campione con Etile Acetato consente di estrarre gran parte dei lipidi fecali.^{8, 15}

Dopo la centrifuga il tappo lipidico e l'Etile Acetato in eccesso vengono travasati lasciando un sedimento compatto arricchito di uova di parassiti, larve, trofozoiti e cisti.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

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

1. Provette da centrifuga coniche (articolo# CS14375)
2. Unità di filtraggio Macro-CON (articolo# CS4230)
3. Tappi a vite (articolo# CS2210A)
4. Bottiglia di surfattante (articolo# 9601-02)

MATERIALI NON FORNITI

1. Etile Acetato (consigliato) o etere dietilico (facoltativo)
2. Formalina al 10% o soluzione salina fisiologica
3. Applicatori a bastoncino con punta cotonata
4. Vetrini per microscopio e copri oggetti
5. Centrifuga
6. Microscopio
7. Pipetta capillare
8. Soluzione zuccherina di Sheather (facoltativo)

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. L'etile acetato e l'etere dietilico sono infiammabili e vanno utilizzati in aree ben ventilate. Tenere lontano dal fuoco. Evitare di portare la soluzione a contatto con la pelle e gli occhi. In caso di contatto, risciacquare con acqua corrente. Tenere lontano dai vapori.
3. Il fissativo PVA ha effetto corrosivo sui metalli. Evitare il contatto con gli alimenti.
4. A causa della natura infettiva delle feci non conservate, è opportuno utilizzare guanti. Quando si produce e manipola un campione, è necessario proteggere e lavare le mani.
5. Para-Pak Macro-CON è specificamente progettato per l'utilizzo con la linea di prodotti Para-Pak per la parassitologia. Per garantire un utilizzo corretto del prodotto, in particolare per evitare la fuoriuscita di campione del paziente, è necessario utilizzare la linea di prodotti Para-Pak.
6. Para-Pak Macro-CON è stato progettato per l'utilizzo con il surfattante fornito. Per garantire un utilizzo corretto del prodotto è necessario attenersi alla procedura di concentrazione descritta nel foglietto illustrativo della confezione.
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



Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant

Segnalazione

Avvertenze

Indicazioni di Pericolo

H302 - Nocivo se ingerito

Contiene Polyethylene glycol 1,1,3,3-tetramethylbutylphenyl ether

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

I componenti di filtraggio Macro-CON sono stabili per tre anni dalla data di produzione, se conservati a temperatura ambiente.

PROCEDURA DEL TEST

È possibile utilizzare qualsiasi campione conservato in Formalina al 10%. Sodio Acetato-Formalina (SAF) o Alcol Poli Vinilico (PVA). Viene inoltre fornita la descrizione della procedura di utilizzo per feci fresche.^{5, 8, 13, 14}

La procedura è una variante della metodica "formalina-etere" detta Concentrazione di Ritchie.¹⁴

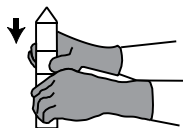
A. RACCOLTA DEI CAMPIONI

1. Nel processo diagnostico è di fondamentale importanza poter disporre di un campione adeguato^{1-4, 8, 11} Para-Pak Macro-CON è specificamente progettato per essere utilizzato con la linea di prodotti Para-Pak per la parassitologia (vedere il punto 5 del paragrafo Precauzioni). Raccogliere i campioni come indicato dal relativo foglietto illustrativo Para-Pak fornito con il sistema di raccolta.
2. Per ottenere una fissazione appropriata, il campione deve essere adeguatamente mescolato al fissativo. La miscela di fissativo e feci deve essere lasciata a riposo per un minimo di 30 minuti a temperatura ambiente nel periodo compreso fra la raccolta e l'elaborazione dei campioni.
3. Per ottenere uno striscio permanente dal materiale conservato Para-Pak SAF o LV-PVA, si consiglia di rimuovere, prima della concentrazione, una parte delle feci conservate. La procedura per ottenere uno striscio permanente è descritta nel foglietto illustrativo di Para-Pak SAF o LV-PVA.

B. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. Rimuovere il tappo dalla fiala contenente il campione del paziente e aggiungere 10 gocce di surfattante alla fiala del campione. Richiudere bene la fiala con il tappo.
2. Agitare bene per 60 secondi. Per facilitare lo scioglimento di alcuni campioni compatti o altamente mucoidi è possibile ricorrere ad un agitatore vortex.
3. Verificare che la provetta da centrifuga conica da 50 mL sia bene avvitata all'unità di filtraggio. Rimuovere il tappo dalla fiala del campione del paziente e inserire l'estremità aperta dell'unità di filtraggio Macro-CON nella fiala del campione, come illustrato nella figura 1, con una leggera pressione verso il basso fino al completo inserimento.

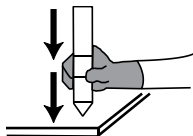
Figura 1



Inserire fermamente l'unità di filtraggio nella parte superiore della fiala Para-Pak

4. Capovolgere il sistema Macro-CON e lasciare che il campione venga filtrato attraverso le maglie del filtro nella provetta da centrifuga conica da 50 mL, come illustrato nella Figura 2. Se il campione ha uno spessore eccessivo, picchiare la provetta da centrifuga sulla superficie di un tavolo, in modo da agevolare il ri fluire del materiale attraverso le maglie del filtro.

Figura 2.



Picchiare per far scivolare la soluzione nella provetta conica.

5. Afferrando il colletto dentellato, allentare MA NON RIMUOVERE l'unità di filtraggio dalla provetta da centrifuga conica. Lasciare il sistema Macro-CON a riposo per 60 secondi. In questo modo si libera la pressione nel sistema e si ottiene un drenaggio migliore del filtro.
6. Richiudere nuovamente l'unità di filtraggio alla provetta da centrifuga conica e picchiare due o tre volte per forzare l'eventuale liquido residuo nella provetta da centrifuga conica.
7. Inclinare il sistema Macro-CON di circa 30 gradi dalla posizione orizzontale e svitare completamente l'unità di filtraggio dalla provetta da centrifuga conica.
8. Gettare l'unità di filtraggio/fiala Para-Pak del campione seguendo le procedure adottate dal laboratorio per lo smaltimento dei campioni fecali.
9. Aggiungere formalina al 10% (o soluzione fisiologica) per portare il livello del campione filtrato alla linea punteggiata sull'etichetta del sistema Para-Pak Macro-CON.
10. Aggiungere 5 mL di Etil Acetato (etere dietilico facoltativo) alla provetta da centrifuga conica. Collocare fermamente sulla provetta da centrifuga uno dei cappucci a vite forniti. Nota: per evitare la fuoriuscita o la contaminazione dei materiali, non utilizzare il tappo a vite del contenitore originale del campione.
11. Agitare bene per 60 secondi. Se si utilizza etere dietilico, allentare il tappo sulla provetta da centrifuga conica per abbassare la pressione prima della centrifuga.
12. Chiudere nuovamente il tappo sulla provetta da centrifuga conica e centrifugare per 10 minuti a 500 xg (circa 1800-2200 rpm nella maggior parte delle centrifughe da banco).
13. Eliminare il fluido supernatante e lo strato di detriti e **LASCIARE LA PROVETTA CAPOVOLTA**.
14. **CON LA PROVETTA ANCORA CAPOVOLTA**, pulire le pareti interne con uno o due applicatori a bastoncino con punta cotonata per rimuovere i residui di detriti e l'Etil Acetato (se si utilizza l'etere dietilico tralasciare questa operazione). **Se si lascia ri fluire l'acetato etilico in eccesso verso il sedimento indurito, il preparato del vetrino bagnato risulterà inadeguato a causa della formazione di bolle di solvente.** Il sedimento ammassato in fondo alla provetta contiene gli elementi parassitici.
15. Aggiungere alcune gocce di formalina al 10% o di soluzione salina fisiologica e mescolare il sedimento indurito. Se si desidera ottenere uno striscio permanente mediante il materiale concentrato Para-Pak LV-PVA, il composto deve essere tenuto nuovamente in sospensione in alcune gocce di LV-PVA. Lasciare il sedimento a riposo per un minuto.
16. Il campione da analizzare deve essere prelevato con una pipetta capillare dalla metà superiore del materiale sottoposto nuovamente a sospensione. Questa parte contiene il maggior numero di parassiti ed evita le particelle più grandi e dense che possono interferire con il preparato del vetrino bagnato. Versare 1-2 gocce dalla pipetta capillare sul vetrino del microscopio, collocare un vetrino copri oggetto sulla sospensione e procedere immediatamente all'esame.
17. Se si desidera effettuare una colorazione con lo iodio, collocare una sola goccia di Soluzione di Lugol sul vetrino, e aggiungere poi una goccia di sedimento sottoposto a nuova sospensione. Collocare un vetrino copri oggetto sulla sospensione e procedere immediatamente all'esame.
18. Il sedimento rimanente può essere utilizzato per gli esami *Cryptosporidium* e *Isospora belli*. È possibile creare degli strisci sottili per una colorazione Acid Fast. Inoltre è possibile eseguire la flottazione con soluzione zuccherina di Sheather.^{6, 9, 12, 16}

NOTA: Talvolta un campione può essere estremamente denso o mucoso e necessita di un lavaggio preliminare. Il lavaggio, in soluzione fisiologica salina o acqua corrente, può essere effettuato passata i passaggi 8 e 9. Il materiale lavato deve essere centrifugato come descritto al passaggio 12.

C. PROCEDURA PER CAMPIONI DI FECI FRESCHE

Questa procedura permette di eseguire la tecnica della concentrazione su un campione in fiala Para-Pak Clean dopo la coltura di amebe, l'allevamento di larve di anchilostoma, la coltura batterica, l'analisi di sangue occulto o grasso fecale.

3-5 g di feci sono adatti all'aggiunta di 15 mL di formalina al 10%.

1. Aggiungere 15 mL di formalina al 10% al campione fecale da 3-5 g in una fiala Para-Pak Clean.
2. Mescolare bene il contenuto.
3. Lasciare a riposo a temperatura ambiente per 30 minuti per garantire un'adeguata fissazione.
4. Seguire la procedura indicata nella Sezione B, Elaborazione del campione, Passaggi 1-18.

CONTROLLO QUALITÀ

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

Le unità di filtraggio Macro-CON non devono presentare incrinature. La trama del vaglio deve presentare un aspetto uniforme.

Il surfattante non deve presentare contaminazioni batteriche o fungine.

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 (in Italia +390331433636).

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Dati clinici

Le caratteristiche del sistema di concentrazione Para-Pak Macro-CON sono state valutate mediante un confronto con una comune procedura di laboratorio in due diverse zone. I campioni conservati con LV-PVA o formalina al 10% sono stati sottoposti a concentrazione mediante il sistema Macro-CON (MC) e una comune procedura di laboratorio (CLP). Una volta identificato il parassita o i parassiti presenti, si è passati all'enumerazione di ciascuna specie in ogni sistema.

I dati indicano il numero di volte in cui ciascun organismo è stato isolato. È inoltre inclusa una serie di conteggi per ogni sistema.

In sei casi uno solo sistema è stato in grado di isolare un organismo. In ciascun caso sono stati enumerati < 2 organismi in totale per vetrino copri oggetto nel sistema positivo.

SPECIFICITÀ DEL TEST

IDENTIFICAZIONE

	MC	GAMMA	CLP	GAMMA
<i>Ascaris lumbricoides</i>	24	16-390/CS	24	11-582/CS
<i>Giardia lamblia</i>	22	1/LPF-10+/HPF	22	.5/LPF-3/HPF
Hookworm	24	1-3.6 6/LPF	23	0-3.3/LPF
<i>Trichuris trichura</i>	20	0-100+/CS	23	1-100+/CS
<i>Entamoeba coli</i>	14	7/CS-25+/LPF	14	7/CS-20 LPF
<i>Endolimax nana</i>	9	.3-.9/HPF	9	2-5.2/HPF
<i>Entamoeba histolytica</i>	9	.6-13/HPF	9	.6-9/HPF
<i>Clinorchis sinensis</i>	6	4-50/CS	6	5-89/CS
<i>Strongyloides stercoralis</i>	5	0-15/CS	7	1-47/CS
<i>Hymenolepis nana</i>	7	15/CS-6.1/LPF	7	15/CS-19.8/LPF
<i>Taenia saginata</i>	4	1-248/CS	4	3-154/CS
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	.9-11/HPF	4	1.2-20/HPF
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	3-HPF	1	3/HPF
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	.3-5/HPF	6	.3-4.5/HPF
<i>Opisthorchis viverrini</i>	2	31-147/CS	2	25-186/CS
<i>Diphyllobothrium latum</i>	3	46-800+/CS	3	100-800+/CS
<i>Isospora belli</i>	1	15/HPF	1	15/HPF
<i>Entamoeba polecki</i>	1	3.1/LPF	1	2.3/LPF

Campo ad alta potenza (HPF)

Campo a bassa potenza (LPF)

Vetrino copri oggetto (CS)

In un laboratorio clinico degli Stati Uniti centro-occidentali, dei campioni di feci diarroiche da sottoporre a procedure diverse da quelle utilizzate per l'esame di uova e parassiti sono stati concentrate seguendo i metodi precedentemente illustrate. I 25 campioni esaminati sono risultati tutti negativi mediante MC e CLP.

Para-Pak[®] Macro-CON[®]

Système de Concentration des Echantillons de Selles

REF 970120

IVD

Rx Only

BUT DE LA METHODE

Para-Pak Macro-CON est un système de concentration des œufs et larves d'helminthe et des protozoaires à partir d'échantillons fécaux fixés. Ce système de filtration est destiné à être utilisé directement avec les flacons de prélèvement des échantillons Para-Pak. L'ensemble donne **un système complètement fermé**, qui permet de minimiser l'exposition de l'utilisateur aux agents potentiellement infectieux. La procédure de concentration **Macro-CON** utilise le contenu total d'un flacon de prélèvement Para-Pak, réduisant les variations dues à l'échantillonnage des selles. Ceci présente un grand intérêt en Parasitologie Clinique, lorsqu'un nombre d'organismes faible est présent dans un grand volume de selles. Les systèmes de kit ont été conçus pour faciliter leur utilisation aux individus qui ne sont pas formés aux procédures microbiologiques.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le diagnostic d'une maladie parasitaire intestinale est confirmé par la mise en évidence et l'identification des œufs et des larves d'helminthe, ou des trophozoïtes et des kystes de protozoaires. Les procédures de concentration facilitent cette mise en évidence, et sont très importantes lorsqu'un petit nombre de parasites est présent dans de grands volumes de selles.^{1, 2, 4, 7, 8, 11, 13-15}

Le système Para-Pak Macro-CON présente de grands avantages par rapport à la technique traditionnelle utilisant de la gaze et un entonnoir, et par rapport à d'autres dispositifs de concentration. Le système de concentration Para-Pak Macro-CON est fixé directement sur le tube de prélèvement de l'échantillon, ce qui permet de créer un système fermé et de minimiser les risques de contamination. Le contenu du flacon n'est donc jamais manipulé directement par le personnel de laboratoire. La concentration effectuée directement à partir du flacon de prélèvement minimise la manipulation, et facilite le diagnostic rapide.

L'utilisation correcte du système de filtration Para-Pak Macro-CON, en conjonction avec les tubes de prélèvement des échantillons Para-Pak, assure au Spécialiste en Parasitologie que tous les stades de développement des parasites, s'ils sont présents dans l'échantillon, seront concentrés.

PRINCIPE DU TEST

Le système de filtration est constitué d'un tube de centrifugation conique de 50 mL, surmonté d'un adaptateur à rebord qui contient un filtre en plastique.

L'échantillon de selles conservé est d'abord mélangé soigneusement avec un surfactant qui réduit les forces d'adhésion et détruit les agrégats fécaux, ce qui libère les parasites.^{10, 14}

La filtration de l'échantillon à travers le filtre de l'adaptateur Macro-CON élimine les débris et les agrégats. Cette étape est facilitée par le processus d'évacuation d'air unique sur l'adaptateur, qui permet un échange d'air entre le tube d'échantillon et le falcon de centrifugation. Le style simple du Para-Pak Macro-CON assure des performances reproductibles et limite les risques d'obstruction.

Le mélange de l'échantillon avec l'acétate d'éthyle extrait la plupart des lipides fécaux.^{8, 15}

Après centrifugation, le bouchon de lipides et l'excès d'acétate d'éthyle sont décantés, et il reste un culot de sédiments enrichis en œufs et larves de parasites, et en kystes et trophozoïtes.

MATERIEL FOURNI

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

1. Tubes de centrifugation coniques (article# CS14375)
2. Unités de filtration (adaptateur) Macro-CON (article# CS4230)
3. Bouchons à vis (article# CS2210A)
4. Flacon de surfactant (article# 9601-02)

MATERIEL NON FOURNI

1. Acétate d'éthyle (recommandé) ou diéthyl éther (optionnel)
2. Formol 10% ou solution physiologique
3. Coton tige
4. Lames et lamelles de microscope
5. Centrifugeuse
6. Microscope
7. Pipettes capillaires
8. Solution de Sheather (optionnel)

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. L'acétate d'éthyle et le diéthyl éther sont inflammables. A utiliser dans un local bien ventilé. Ne pas approcher d'une flamme. Eviter le contact avec la peau ou les yeux. En cas de contact, rincer abondamment à l'eau courante. Eviter de respirer les vapeurs.
3. La solution de fixation PVA est corrosive pour les métaux. Eviter le contact avec des métaux.
4. Les échantillons des patients peuvent contenir du VIH ou d'autres agents infectieux. Ils devront être manipulés par un personnel correctement entraîné, et éliminés comme du matériel potentiellement infectieux. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons et pendant la réalisation du test.
5. Le système Para-Pak Macro-CON a été spécifiquement développé pour être utilisé avec la gamme Para-Pak de flacons de prélèvement en parasitologie. Une performance correcte de ce produit, particulièrement une absence de fuites d'échantillons, est assurée seulement en utilisant les différents composants de la gamme Para-Pak.
6. Le système Para-Pak Macro-CON a été spécifiquement développé pour être utilisé avec le surfactant fourni. Une performance correcte de ce produit est assurée seulement en suivant la procédure de concentration donnée dans la notice d'utilisation.
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



Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant

Mention d'avertissement

Attention

Mentions de danger

H302 - Nocif en cas d'ingestion

Contient Poly(oxy-1,2-éthanediyle), .alpha.-[4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phényl]-.oméga.-hydroxy-

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

Les composants du système de filtration Macro-CON sont stables pendant trois ans après la date de fabrication s'ils sont conservés à température ambiante.

PROCEDURE DE TEST

Tous les échantillons conservés dans le formol 10%, le SAF (acétate de sodium, acide acétique, formol) ou le PVA (polyvinyl alcool) peuvent être utilisés. Une procédure pour la concentration des échantillons de selles frais a également été décrite.^{5, 8, 13, 14}

La méthodologie proposée ici est une variante de la procédure de Ritchie (formol – éther).¹⁴

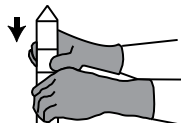
A. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

1. Un échantillon adéquat est d'une importance primordiale pour le processus de diagnostic.^{1-4, 8, 11} Le système Para-Pak Macro-CON a été spécifiquement développé pour être utilisé avec la ligne Para-Pak de parasitologie (voir paragraphe Précautions #5). Recueillir les échantillons comme indiqué dans les notices des flacons Para-Pak appropriés, fournies avec le système de prélèvement.
2. L'échantillon doit être bien mélangé dans le conservateur. Le mélange selles-conservateur doit être laissé au moins 30 minutes à température ambiante entre le moment du prélèvement et la réalisation de la procédure suivante, pour assurer une fixation correcte.
3. Si une coloration permanente du frottis est souhaitée, il est conseillé d'enlever et de conserver une partie des selles fixées avant l'étape de concentration à l'aide du système Macro-Con, pour être manipulée séparément. La procédure pour la coloration permanente est reportée dans la notice d'utilisation de Para-Pak SAF ou LV-PVA.

B. PREPARATION DES ECHANTILLONS

1. Oter le bouchon du flacon de prélèvement des échantillons, et ajouter 10 gouttes de surfactant Para-Pak par flacon Para-Pak. Replacer soigneusement le bouchon.
2. Mélanger vigoureusement pendant 60 secondes. La dislocation de certains échantillons très muqueux ou présentant des agrégats peut être facilitée en le passant au vortex.
3. Vérifier que l'unité de filtration est correctement vissée sur le tube de centrifugation de 50 mL. Oter le bouchon du flacon de prélèvement des échantillons et insérer l'extrémité libre de l'unité de filtration Macro-CON dans le tube de prélèvement, avec une pression douce dirigée vers le bas figure 1, jusqu'à ce qu'il soit fermement fixé.

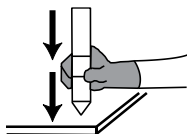
Figure 1



Placer un filtre dans l'ouverture du tube Para-Pak

4. Inverser le système, et faire filtrer l'échantillon de selles au travers du filtre de l'unité de filtration, dans le tube de centrifugation conique de 50 mL (figure 2). Si l'échantillon est épais, le tube de centrifugation peut être tapoté fermement sur une table pour faciliter le flux de matériel à travers le filtre.

Figure 2



Tapoter pour forcer la solution dans le tube conique.

5. En tenant fermement l'anneau crénelé, desserrer MAIS NE PAS OTER l'unité de filtration du tube de centrifugation conique. Laisser le système Macro-Con en position verticale sans le remuer pendant 60 secondes. Ceci fera diminuer la pression interne et permettra un meilleur drainage du filtre.
6. Resserrer l'unité de filtration sur le tube de centrifugation conique, et tapoter fermement deux ou trois fois pour faire passer tout le liquide restant dans le tube de centrifugation.
7. Incliner le système Macro-CON d'environ 30 degrés par rapport à l'horizontale, et dévisser complètement l'unité de filtration pour la séparer du tube de centrifugation.
8. Jeter l'unité de filtration et le tube de prélèvement des échantillons selon les procédures en vigueur dans le laboratoire pour l'élimination des échantillons fécaux.
9. Ajouter du formol 10% pour porter le niveau de l'échantillon filtré jusqu'à la ligne notée sur l'étiquette du Para-Pak Macro-CON.
10. Ajouter 5 mL d'acétate d'éthyle (diéthyl éther, optionnel) dans le tube de centrifugation conique. Visser fermement le bouchon à vis fourni sur le tube de centrifugation. (Remarque : ne pas utiliser le bouchon à vis du tube de prélèvement des échantillons, car des fuites ou des contaminations pourraient se produire).
11. Agiter vigoureusement pendant 60 secondes. En cas d'utilisation de diéthyl éther, dévisser légèrement le bouchon du tube de centrifugation, pour permettre à la pression de diminuer avant la centrifugation.
12. Resserrer le bouchon sur le tube, et centrifuger pendant 10 minutes à 500 g (1800-2200 rpm pour la plupart des centrifugeuses de pailleasse).
13. Eliminer le surnageant et les couches de débris et **MAINTENIR LE TUBE EN POSITION INVERSEE**.
14. **EN MAINTENANT LE TUBE EN POSITION INVERSEE**, nettoyer les parois à l'intérieur avec un ou deux coton tiges, pour éliminer les débris et l'acétate d'éthyle restant (cette étape peut être omise en cas d'utilisation de diéthyl éther). **Ne pas laisser l'excès d'acétate d'éthyle redescendre sur le culot de sédiments, car cela peut conduire à un montage aqueux sur lame médiocre, dû à la formation de bulles de solvant.** Le culot de sédiments au fond du tube contient les éléments parasitaires.
15. Ajouter quelques gouttes de formol 10% ou de sérum physiologique, et remettre le culot en suspension. Si on désire préparer une lame colorée de façon permanente à partir d'un échantillon fixé et concentré dans du Para-Pak LV-PVA, le culot doit être remis en suspension dans quelques gouttes de LV-PVA. Laisser le culot reposer une minute.
16. L'échantillon à examiner doit être prélevé avec une pipette capillaire dans la moitié supérieure du matériel remis en suspension. Cette partie contient le plus grand nombre de parasites, mais pas les particules les plus grosses qui peuvent interférer avec le montage aqueux. Placer 1-2 gouttes d'échantillon contenu dans la pipette capillaire sur une lame de microscope, placer une lamelle couvre-objet sur la suspension, et observer immédiatement. Lorsqu'un montage aqueux correct est réalisé à partir du culot remis en suspension, un journal déposé sous la lame doit pouvoir être lu à travers la lame.
17. Pour réaliser une coloration par l'iode, placer une seule goutte de solution de Lugol avec une pipette capillaire sur une lame, et ajouter ensuite une goutte du culot remis en suspension. Placer une lamelle sur la suspension et observer immédiatement.
18. Le culot remis en suspension restant peut être utilisé pour l'observation de *Cryptosporidium* et de *Isospora belli*. Des frottis fins peuvent être faits à partir d'une coloration acide rapide. La procédure de flottation de Sheather peut également être réalisée.^{6, 9, 12, 16}

REMARQUE : Parfois un échantillon peut être extrêmement épais ou muqueux, et nécessite un lavage préliminaire. Le lavage, effectué avec du sérum physiologique ou de l'eau, peut être réalisé entre les étapes 8 et 9 de la procédure ci-dessus. L'échantillon lavé sera ensuite centrifugé comme dans l'étape 12.

C. PROCEDURE A SUIVRE POUR LES ECHANTILLONS FRAIS :

Cette procédure permet de réaliser une concentration d'échantillons dans un flacon Para-Pak vide, après une culture d'amibes, une culture bactérienne, une culture de larves d'ankylostome, ou pour un examen rapide de sang occulte ou de selles.

3-5 g d'échantillon de selles est une quantité correcte pour cette procédure, pour l'addition de 15 mL de formol 10%.

1. Ajouter 15 mL de formol 10% aux 3-5 g d'échantillon de selles dans un flacon Para-Pak vide propre.
2. Mélanger soigneusement l'ensemble.
3. Laisser reposer 30 minutes à température ambiante pour assurer une fixation correcte.
4. Suivre la procédure du paragraphe B, Traitement des Echantillons, étapes 1-18.

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.

Les composants du système Macro-CON ne doivent montrer aucune fissure. Le filtre doit présenter une apparence uniforme.

Le surfactant ne doit montrer aucune contamination bactérienne ou fongique.

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.

PERFORMANCES DU TEST

Données cliniques

Les performances du système de concentration Para-Pak Macro-CON ont été évaluées par comparaison avec la procédure de laboratoire courante, dans deux laboratoires différents. Des échantillons conservés dans le formol 10% ou le LV-PVA ont été concentrés avec le système Para-Pak Macro-CON (MC), et une procédure de laboratoire courante (PLC). Après l'identification du ou des parasite(s) présent(s) dans l'échantillon, chaque espèce a été dénombrée dans chaque système.

Les données sont exprimées en nombre de fois où chaque organisme a été isolé. Une gamme de comptage est également donnée pour chaque système.

Dans six cas, un seul système a permis d'isoler l'organisme. Dans chaque cas, moins de 2 organismes par lame ont été dénombrés dans le système qui a donné un résultat positif.

SPECIFICITE DU TEST

IDENTIFICATION	MC	GAMME	PLC	GAMME
<i>Ascaris lumbricoides</i>	24	16-390/CS	24	11-582/CS
<i>Giardia lamblia</i>	22	1/LPF-10+/HPF	22	,5/LPF-3/HPF
Hookworm	24	1-3,6 6/LPF	23	0-3,3/LPF
<i>Trichuris trichura</i>	20	0-100+/CS	23	1-100+/CS
<i>Entamoeba coli</i>	14	7/CS-25+/LPF	14	7/CS-20 LPF
<i>Endolimax nana</i>	9	,3-,9/HPF	9	2-5,2/HPF
<i>Entamoeba histolytica</i>	9	,6-13/HPF	9	,6-9/HPF
<i>Clinorchis sinensis</i>	6	4-50/CS	6	5-89/CS
<i>Strongyloides stercoralis</i>	5	0-15/CS	7	1-47/CS
<i>Hymenolepis nana</i>	7	15/CS-6,1/LPF	7	15/CS-19,8/LPF
<i>Taenia saginata</i>	4	1-248/CS	4	3-154/CS
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	,9-11/HPF	4	1,2-20/HPF
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	3-HPF	1	3/HPF
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	,3-5/HPF	6	,3-4.5/HPF
<i>Opisthorchis viverrini</i>	2	31-147/CS	2	25-186/CS
<i>Diphylllobothrium latum</i>	3	46-800+/CS	3	100-800+/CS
<i>Isospora belli</i>	1	15/HPF	1	15/HPF
<i>Entamoeba polecki</i>	1	3,1/LPF	1	2,3/LPF

HPF (high powered field): champ élevé

LPF (low powered field): champ faible

CS (coverslip): lame de microscope

Dans un laboratoire clinique de l'ouest américain, des échantillons de selles diarrhéiques soumis à des procédures autres que l'observation des parasites, ont été concentrés en utilisant les méthodes décrites ci-dessus. Sur 25 échantillons examinés, tous ont été trouvés négatifs par les procédures MC et PLC.

Para-Pak[®] Macro-CON[®]

Sistema de Concentración Para Muestras de Materia Fecal

REF 970120

IVD

Rx Only

USO INDICADO

Para-Pak Macro-CON es un sistema para la concentración de huevos, larvas y protozoarios presentes en materia fecal preservada. La unidad de filtración está diseñada para ser utilizada directamente con el vial de recolección de muestra Para-Pak, lo cual crea un **sistema completamente hermético** que minimiza la exposición del usuario a agentes potencialmente infecciosos. La concentración con el **Macro-CON** se vale de todo el contenido del vial de recolección de muestra Para-Pak, para reducir la posible variación de los resultados ocasionada por diferencias en la toma de la muestra, lo cual constituye una ventaja importante para el parasitólogo clínico cuando existe un bajo número de organismos en un volumen grande de materia fecal. Los kits están diseñados para que sean fáciles de usar por personas sin formación en procedimientos de microbiología.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El diagnóstico de la enfermedad intestinal parasítica se confirma mediante la recuperación y la identificación de huevos y larvas de helminto, o trofozoítos y quistes de protozoarios. Los procedimientos de concentración facilitan este proceso y son importantes cuando existe un número bajo de parásitos en un volumen grande de materia fecal.^{1, 2, 4, 7, 8, 11, 13-15}

El sistema Para-Pak Macro-CON (número de patente de EE.UU.: 4,675,110, de junio de 1987) tiene muchas ventajas sobre el método tradicional que utiliza gasa y sobre otros dispositivos de concentración existentes. La sujeción del dispositivo de concentración directamente al vial de la muestra redujo la contaminación del usuario mediante la creación de un sistema cerrado. El personal de laboratorio nunca debe manipular directamente el contenido del vial. La concentración directamente a partir del vial Para-Pak reduce la manipulación manual, facilitando así un diagnóstico de laboratorio rápido.

El uso correcto de la unidad de filtración Macro-CON, en conjunto con el vial de recolección de la muestra Para-Pak, asegura al parasitólogo la concentración de las etapas diagnósticas de los parásitos intestinales presentes en la muestra de materia fecal.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

La unidad de filtración está compuesta por un tubo de centrifuga cónico, con capacidad de 50 mL, que posee un tapón y un adaptador en forma de pestaña e incorpora una malla plástica para filtrado.

Primero la materia fecal preservada se mezcla profusamente con un surfactante, lo cual facilita la reducción de las fuerzas de adhesión y la desintegración de los agregados de materia fecal, liberando los parásitos.^{10, 14}

La filtración de la muestra a través del filtro Macro-CON remueve segmentos grandes y detritos, lo cual se facilita mediante el proceso de aireación único que permite un intercambio de aire entre el tubo y el vial a medida que el material extraído se filtra dentro del tubo. El diseño simple de Macro-CON asegura un funcionamiento sin problemas y con menos obstrucciones.

La emulsificación de la muestra con etil acetato extrae gran parte de los lípidos fecales.^{8, 15}

Después centrifugar, tanto el tapón lipídico como etil acetato remanente se decantan, dejando un sedimento compacto rico en huevos, larvas, trofozoítos y quistes de parásitos.

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

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

1. Tubos de centrifuga cónicos (artículo# CS14375)
2. Unidades de filtración Macro-CON (artículo# CS4230)
3. Tapas de rosca (artículo# CS2210A)
4. Frasco de surfactant (artículo# 9601-02)

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Etil acetato (recomendado) o dietil éter (opcional)
2. Formalina al 10% o solución salina fisiológica
3. Aplicadores con punta de algodón
4. Láminas porta y cubreobjetos
5. Centrifuga
6. Microscopio
7. Pipeta capilar
8. Solución concentrada de sacarosa (de Sheather) (opcional)

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. Tanto el etil acetato como el dietil éter, siendo inflamables, deben utilizarse en un área con ventilación adecuada. Evite las llamas, como así también el contacto de la solución con su piel y ojos. Si ocurre contacto, lave con un chorro abundante de agua. Evite inhalar las emanaciones.
3. Evite el contacto del PVA fijador con los metales, ya que los corroe.
4. Debido a que la materia fecal no preservada es infecciosa, use guantes y practique métodos preventivos como lavarse las manos al obtener o manipular las muestras.
5. El sistema Para-Pak Macro-CON está diseñado específicamente para ser utilizado con la línea de productos Para-Pak Macro-CON para parasitología. El funcionamiento adecuado del producto, especialmente la obtención de una muestra libre de filtraciones, puede solamente asegurarse cuando se utiliza la línea de productos Para-Pak.
6. Para-Pak Macro-CON está diseñado para ser utilizado con el surfactante proporcionado. El funcionamiento adecuado del producto puede solamente asegurarse cuando se sigue el procedimiento de concentración descrito en el prospecto del paquete.
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

 Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant	Palabra de advertencia Advertencia Indicaciones de peligro H302 - Nocivo en caso de ingestión Contiene Poli(oxi-1,2-etanodiol), .alfa.-4[4-(1,1,3,3-tetrametilbutil)fenil]-omega.-hidroxi-
---	---

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

Los componentes de filtración Macro-CON son estables durante tres años a partir de la fecha de su fabricación cuando se los almacena a temperatura ambiente.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Se puede utilizar cualquier muestra preservada en formalina al 10%, formalina ácido acético acetato de sodio (SAF), o alcohol polivinílico (PVA). También se describe un procedimiento para la utilización de materia fecal fresca.^{5, 8, 13, 14}

La metodología es una modificación del procedimiento del éter de formalina de Ritchie.¹⁴

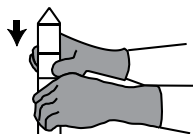
A. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

1. En el proceso diagnóstico una muestra adecuada es de vital importancia.^{1-4, 8, 11} Para-Pak Macro-CON está diseñado específicamente para usar con la línea de productos Para-Pak para parasitología (ver Precauciones, punto 5). Recoja las muestras de acuerdo con las instrucciones descritas en el prospecto del paquete Para-Pak apropiado que se incluye con el sistema de recogida Para-Pak SAF o LV-PVA.
2. La muestra debe estar bien mezclada en el agente preservante correspondiente, y se la debe dejar reposar un mínimo de 30 minutos a temperatura ambiente, después de recolectarla y antes de procesarla para que ocurra la fijación adecuada.
3. Si se desea una tinción permanente de material preservado con Para-Pak SAF o LV-PVA, se recomienda que una porción de materia fecal preservada sea tratada separadamente antes de realizar la concentración. Puede obtener las instrucciones del procedimiento de tinción permanente en el prospecto del paquete Para-Pak SAF o LV-PVA correspondiente.

B. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Quite el tapón y añada 10 gotas de surfactante al vial de la muestra de materia fecal. Vuelva a colocar los tapones en los tubos, asegurándose de que queden bien tapados.
2. Agite vigorosamente durante 60 segundos. La agitación en un vórtex puede facilitar la desintegración de algunas muestras muy duras o mucoides.
3. Asegúrese de que el tubo cónico de 50 mL esté bien enroscado en la unidad de filtración. Retire el tapón del vial de la muestra e inserte el extremo abierto de la unidad de filtración Macro-CON en el vial de la muestra, ejerciendo una leve presión hacia abajo, hasta que ésta quede firmemente asentada Figura 1.

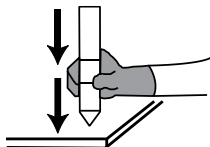
Figura 1



Inserte la unidad de filtración firmemente en la parte superior del vial Para-Pak.

4. Invierta el sistema Macro-CON y permita que se filtre la muestra a través de la malla, haciendo que esta ingrese al tubo cónico de 50 mL, como se muestra en la Figura 2. Si la muestra es viscosa, se puede golpear el tubo, con un movimiento rápido, sobre la mesa de trabajo, para facilitar el flujo del material a través de la malla.

Figura 2



Golpee bruscamente para hacer que la solución ingrese al tubo cónico.

5. Suelte PERO NO REMUEVA, la unidad de filtración del tubo cónico, sosteniendo el cuello dentado. Deje reposar el sistema Macro-CON durante 60 segundos, lo cual liberará la presión presente en él y logrará un mejor drenaje del filtro.
 6. Vuelva a ajustar la unidad de filtración en el tubo cónico y golpee con firmeza dos o tres veces para hacer que cualquier líquido remanente ingrese al tubo.
 7. Incline el sistema Macro-CON en un ángulo horizontal de aproximadamente 30 grados y desenrosque la unidad de filtración del tubo cónico completamente.
 8. Deseche la unidad de filtración/vial de muestra Para-Pak según las normas establecidas por su laboratorio para el desecho de muestras de material fecal.
 9. Añada formalina al 10% hasta que el nivel de la muestra filtrada alcance la línea de puntos de la etiqueta de Para-Pak Macro-CON.
 10. Añada 5 mL de etil acetato (dietil éter es opcional) al tubo cónico. Tápelolo firmemente con el tapón de rosca proporcionado. (Importante: No utilice el tapón a rosca del recipiente original de la muestra, ya que puede filtrarse y contaminarse).
 11. Agite vigorosamente durante 60 segundos. Si utiliza dietil éter, afloje el tapón del tubo cónico, para liberar la presión antes de que ocurra la centrifugación.
 12. Vuelva a ajustar el tapón del tubo cónico y centrifugue durante diez minutos a 500 xg (1800-2200 rpm en la mayoría de las centrifugas de mesa).
 13. Vierta el sobrenadante y la capa de detrito y **MANTENGA EL TUBO INVERTIDO**.
 14. **MANTENIENDO EL TUBO INVERTIDO** limpie las paredes internas con uno o dos palillos aplicadores de madera con punta de algodón para remover cualquier detrito y etil acetato remanentes (si utiliza dietil éter puede obviar este paso). **Si deja que el exceso de etil acetato reingrese al sedimento compacto, obtendrá una preparación pobre y húmeda debido a la formación de burbujas de solvente.** El sedimento compacto que está en el fondo del tubo contiene los parásitos.
 15. Añada unas gotas de formalina al 10% o de solución salina fisiológica y mezcle el sedimento compacto. Si se desea una lámina con tinción permanente del material concentrado con Para-Pak LV-PVA, debe volver a suspender el sedimento compacto en unas gotas de Para-Pak LV-PVA. Deje el sedimento reposando por un minuto.
 16. La muestra que se va a examinar debe ser recogida de la mitad superior del material que se volvió a suspender, con una pipeta capilar de 5 a 9 pulgadas (13 a 23 cm). La mitad superior contiene el mayor número de parásitos y evita las partículas más grandes y densas que pueden interferir con el montaje húmedo. Coloque 1 a 2 gotas de la pipeta capilar sobre la lámina portaobjetos, coloque un cubreobjetos sobre la suspensión y examine inmediatamente. Cuando se realiza una preparación húmeda con el sedimento compacto que se volvió a suspender, debe hacerse de un grosor tal que si la lámina se coloca encima de un papel periódico, las letras de éste pueden leerse a través de la misma.
 17. Si se desea tefir con yodo, coloque sobre la lámina una sola gota de Lugol con una pipeta capilar, y añada una gota del sedimento que volvió a suspenderse. Coloque una lámina cubreobjetos sobre la suspensión y examínela inmediatamente.
 18. El sedimento restante puede utilizarse para un examen de *Cryptosporidium* e *Isospora belli*. Se pueden realizar frotis delgados para la visualización de organismos ácido-alcohol resistentes. También se puede realizar la flotación con solución concentrada de sacarosa (de Sheather).^{6, 9, 12, 16}
- IMPORTANTE:** Infrecuentemente se puede presentar una muestra extremadamente dura o mucóide, la cual necesita un lavado preliminar. Éste puede implementarse entre los pasos 8 y 9, con solución salina fisiológica o agua corriente. El material lavado debe centrifugarse como se describe en el paso 12.

C. PROCEDIMIENTO PARA LAS MUESTRAS DE MATERIA FECAL FRESCA

Este procedimiento permite que la técnica de concentración se realice en un vial Para-Pak Clean luego de realizarse exámenes para: cultivo de amebas, observar la parte posterior de larvas de anquilostoma, cultivo bacteriano, sangre oculta, o la determinación de lípidos en materia fecal.

Se requieren de 3 a 5 gramos de materia fecal para añadir 15 mL de formalina al 10%.

1. Añada 15 mL de formalina al 10% a los 3 a 5 gramos de muestra de materia fecal en un vial Para-Pak limpio.
2. Mezcle profusamente
3. Deje reposar un mínimo de 30 minutos a temperatura ambiente, para que ocurra la fijación adecuada.
4. Siga el procedimiento descrito en la Sección B: pasos 1 a 18 del procesamiento de la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

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

Las unidades de filtración Macro-CON no deben presentar ninguna rajadura. La malla filtrante debe tener apariencia uniforme.

El surfactante no debe estar contaminado con hongos ni bacterias.

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.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Datos Clínicos

El funcionamiento del concentrador Para-Pak Macro-CON fue evaluado en dos lugares geográficos diferentes, comparándolo con un procedimiento común de laboratorio. Se concentraron las muestras preservadas con LV-PVA o formalina al 10% utilizando el sistema Macro-CON (MC) y un procedimiento común de laboratorio (PCL). Luego de identificar los parásitos presentes, se enumeró cada especie en cada uno de los sistemas.

Los datos se expresaron como el número de veces que se aisló cada organismo. También se incluye un rango del conteo para cada sistema.

En seis casos sólo un sistema aisló un organismo. En cada caso se enumeraron menos de dos organismos por lámina cubreobjetos en el sistema positivo.

ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

IDENTIFICACIÓN	MC	RANGO	PCL	RANGO
<i>Ascaris lumbricoides</i>	24	16-390/CS	24	11-582/CS
<i>Giardia lamblia</i>	22	1/LPF-10+/HPF	22	,5/LPF-3/HPF
Hookworm	24	1-3.6 6/LPF	23	0-3,3/LPF
<i>Trichuris trichura</i>	20	0-100+/CS	23	1-100+/CS
<i>Entamoeba coli</i>	14	7/CS-25+/LPF	14	7/CS-20 LPF
<i>Endolimax nana</i>	9	,3-,9/HPF	9	2-5,2/HPF
<i>Entamoeba histolytica</i>	9	,6-13/HPF	9	,6-9/HPF
<i>Clinorchis sinensis</i>	6	4-50/CS	6	5-89/CS
<i>Strongyloides stercoralis</i>	5	0-15/CS	7	1-47/CS
<i>Hymenolepis nana</i>	7	15/CS-6,1/LPF	7	15/CS-19,8/LPF
<i>Taenia saginata</i>	4	1-248/CS	4	3-154/CS
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	,9-11/HPF	4	1,2-20/HPF
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	3-HPF	1	3/HPF
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	,3-5/HPF	6	,3-4,5/HPF
<i>Opisthorchis viverrini</i>	2	31-147/CS	2	25-186/CS
<i>Diphyllbothrium latum</i>	3	46-800+/CS	3	100-800+/CS
<i>Isospora belli</i>	1	15/HPF	1	15/HPF
<i>Entamoeba polecki</i>	1	3,1/LPF	1	2,3/LPF

Campo visual de gran aumento (HPF)

Campo visual de bajo aumento (LPF)

Lámina cubreobjetos (CS)

En un laboratorio clínico de la región centro-oeste de los EE.UU., se recibieron muestras de materia fecal diarreica para la realización de procedimientos que no involucraban el examen de huevos y parásitos. Estas se concentraron utilizando los métodos descritos anteriormente. De un total de 25 muestras examinadas, todas resultaron negativas al utilizar el sistema Macro-CON y un procedimiento común de laboratorio.

Para-Pak[®] Macro-CON[®]

STUHLKONZENTRATIONSSYSTEM

REF 970120

IVD

Rx Only

VERWENDUNGSZWECK

Para-Pak Macro-CON ist ein System zur Konzentration von Eiern, Larven und Protozoen von konservierten Stuhlproben. Die Filtereinheit ist zur direkten Verwendung mit dem Para-Pak Probenentnahmegefäß bestimmt. Dadurch besteht ein **vollständig geschlossenes System**, das den Benutzer in geringerem Maße potenziell infektiösen Stoffen aussetzt. Die Konzentration mit **Macro-CON** verwendet den gesamten Inhalt des Para-Pak Probenentnahmegefäßes, wodurch die Variabilität aufgrund von Probenentnahme verringert wird. Dies ist von besonderem Vorteil für den klinischen Parasitologen, wenn eine kleine Menge an Organismen in einem großen Volumen an Stuhl vorhanden ist. Die Kitsysteme sind so konzipiert, dass sie auch von Personen verwendet werden können, die nicht in mikrobiologischen Verfahren geschult sind.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Die Diagnose einer intestinalen parasitären Erkrankung wird durch die Auffindung und Identifikation von Helmintheneiern und -larven oder protozoischen Trophozoiten und Zysten bestätigt. Die Konzentrationsverfahren erleichtern diesen Prozess und sind wichtig, wenn eine kleine Anzahl von Protozoen in großen Mengen Stuhl vorliegen. ^{1, 2, 4, 7, 8, 11, 13-15}

Das Para-Pak Macro-CON System (Patent Nr. 4,675,110 Juni 1987) hat im Vergleich zu sowohl der herkömmlichen Gazemethode als auch anderen verfügbaren Konzentrationsgeräten verschiedene Vorteile. Die Befestigung des Konzentrationsgeräts direkt am Probengefäß verringert die Kontamination des Benutzers, weil ein geschlossenes System besteht. Der Inhalt des Probengefäßes muss nie direkt vom Laborpersonal manipuliert werden. Die Konzentration direkt vom Para-Pak Gefäß aus verringert die unmittelbare Manipulation und erleichtert eine schnelle Labordiagnose.

Die sachgerechte Verwendung der Macro-CON Filtrationseinheit in Verbindung mit dem Para-Pak Probenentnahmegefäß stellt sicher, dass die diagnostischen Stadien intestinaler Parasiten konzentriert werden, wenn sie im Stuhl vorhanden, sind.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Die Filtrationseinheit besteht aus einem 50 mL konischen Zentrifugenröhrchen, das mit einem geflanschten Adapter und einem Plastikmaschensieb verschlossen ist.

Konservierter Stuhl wird zuerst gründlich mit einem Tensid gemischt, wodurch die Adhäsionskräfte verringert, die Fäkalaggregate aufgespalten und dadurch die Parasiten frei werden. ^{10, 14}

Mittels der Filterung der Probe durch den Macro-CON-Filter werden große Klumpen und Verunreinigungen entfernt. Dies wird durch den einzigartigen Ventilationsprozess erleichtert, der einen Luftaustausch zwischen dem Röhrchen und dem Gefäß gestattet, wenn das extrahierte Material durch das Zentrifugenröhrchen gefiltert wird. Das einfache Design von Macro-CON gewährleistet eine problemlose Leistungsfähigkeit und weniger Verstopfung.

Die Emulsion der Probe mit Ethylazetat extrahiert einen Großteil der Fäkalipide. ^{8, 15}

Nach der Zentrifugierung werden die Lipidpfropfen und der Überschuss an Ethylazetat dekantiert und ein festes Sediment verbleibt, das Parasiteneier, Larven, Trophozoiten und Zysten enthält.

REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

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

1. Konische Zentrifugenröhrchen (Artikel# CS14375)
2. Macro-CON Filtrationseinheiten (Artikel# CS4230)
3. Schraubkappen (Artikel# CS2210A)
4. Flasche Tenside (Artikel# 9601-02)

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Ethylazetat (vorgeschlagen) oder Diethyläther (optional)
2. 10 % Formalin oder physiologische Kochsalzlösung
3. Watte-Applikatorstäbchen
4. Mikroskop-Objektträger und Deckgläser
5. Zentrifuge
6. Mikroskop
7. Kapillarpipette
8. Sheather's Zuckerlösung (optional)

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Ethylazetat und Diethyläther sind entzündlich. Verwenden Sie diese Bestandteile in einer gut belüfteten Umgebung. Meiden Sie offene Flammen. Vermeiden Sie den Kontakt mit Haut und Augen. Sollte es zu Kontakt kommen, spülen Sie die betroffene Fläche unter laufendem Wasser. Vermeiden Sie es, die Dämpfe einzusatmen.
3. Das PVA_Fixativ korrodiert Metalle. Vermeiden Sie den Kontakt mit Metallen.
4. Wegen der infektiösen Natur unkonservierter Stuhlproben verwenden Sie Handschuhe, sein Sie vorsichtig und waschen Sie Ihre Hände, wenn Sie die Proben entnehmen und handhaben.
5. Para-Pak Macro-CON ist spezifisch zur Verwendung in Verbindung mit der Parasitologie-Produktreihe von Para-Pak bestimmt. Die sachgemäße Leistung des Produkts, insbesondere eine auslaufsichere Anpassung an den Patientenprobenbehälter, kann nur gewährleistet werden, wenn die Para-Pak Produktreihe verwendet wird.
6. Das Para-Pak Macro-CON ist zur Verwendung mit dem mitgelieferten Tensid bestimmt. Die sachgerechte Leistung des Produkts kann nur gewährleistet werden, wenn die in der Packungsbeilage beschriebene Konzentrationsmethode befolgt wird.
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.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE



Reagent A (MucoPenX), CON-Trate Reagent A and Macro-CON Surfactant

Signalwort

Warnung

Gefahrenhinweise

H302 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken

Enthält Poly(oxy-1,2-ethandiyl), .alpha.-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl) phenyl]-.omega.-hydroxy

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Die Macro-CON Filtrationsbestandteile sind drei Jahre lang nach dem Herstellungsdatum haltbar, wenn sie bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Es kann jede in 10 % Formalin, Natrium-Acetat-Formalin (SAF) oder Polyvinylalkohol (PVA) konservierte Probe verwendet werden. Eine Beschreibung des Verfahrens bei der Verwendung von frischem Stuhl liegt ebenfalls vor.^{5, 8, 13, 14}

Die Methode ist eine Modifikation des Ritchie Formalin-Ätherverfahrens.¹⁴

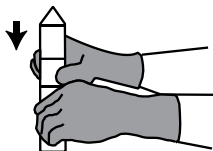
A. PROBENENTNAHME

1. Für den diagnostischen Prozess von allergrößter Bedeutung ist die Verwendung einer angemessenen Probe.^{1-4, 8, 11} Para-Pak Macro-CON ist spezifisch zur Verwendung mit der Para-Pak Parasitologieproduktreihe bestimmt (siehe Vorsichtsmaßnahmen Punkt 5). Bei der Probenentnahme gehen Sie entsprechend den Anweisungen in der jeweiligen Para-Pak Packungsbeilage vor, die dem Entnahmesystem beiliegt.
2. Die Probe muss gründlich mit dem Konservierungsmittel gemischt werden, die Mischung aus Stuhl und Konservierungsmittel muss zwischen dem Zeitpunkt der Entnahme und der Verarbeitung mindestens 30 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen gelassen werden, damit eine adäquate Fixierung erreicht wird.
3. Wenn ein permanent gefärbter Ausstrich von Para-Pak SAF oder LV-PVA konserviertem Material gewünscht wird, wird empfohlen, eine Portion des konservierten Stuhls vor der Konzentration zu entnehmen. Das Verfahren für die permanente Färbung wird in der Para-Pak SAF oder LV-PVA Beilage beschrieben.

B. PROBENVERARBEITUNG

1. Entfernen Sie die Kappe vom Patientprobengefäß und geben Sie zehn Tropfen Tensid zum Probengefäß hinzu. Schrauben Sie die Kappe wieder fest auf.
2. Schütteln Sie den Behälter 60 Sekunden lang kräftig. Die Lösung von geformten oder sehr schleimigen Proben kann durch Vortexen erleichtert werden.
3. Stellen Sie sicher, dass das konische 50 mL-Zentrifugenröhrchen fest auf die Filtrationseinheit aufgeschraubt ist. Entfernen Sie die Kappe vom Patientenprobenbehälter und schieben Sie das offene Ende der Macro-CON Filtrationseinheit wie in Abbildung 1 gezeigt in das Probengefäß, üben Sie dabei einen leichten, nach unten gerichteten Druck aus, bis ein fester Sitz erreicht ist.

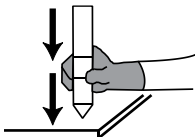
Abbildung 1



Schieben Sie die Filtrationseinheit fest in das Oberteil des Para-Pak® Behälters.

4. Drehen Sie das Macro-CON System um und lassen Sie die Probe durch das Maschennetz in das konische 50 mL-Zentrifugenröhrchen filtern, wie in Abbildung 2 gezeigt. Wenn die Probe dicklich ist, kann das Zentrifugenröhrchen fest auf die Tischoberfläche geklopft werden, damit der Materialfluss durch das Netz erleichtert wird.

Abbildung 2



Fest aufklopfen, um die Lösung in das konische Röhrchen zu zwingen.

5. Halten Sie den verzahnten Hals und lockern Sie die Filtrationseinheit vom konischen Zentrifugenröhrchen, NEHMEN SIE SIE ABER NICHT AB. Lassen Sie das Macro-CON System 60 Sekunden lang ungestört stehen. Dadurch wird der Druck im System abgelassen und die Drainage in den Filter geht einfacher vonstatten.
6. Schrauben Sie die Filtrationseinheit wieder fest auf das konische Zentrifugenröhrchen auf und klopfen Sie es zwei oder drei Mal fest auf, um eine eventuell vorhandene Restflüssigkeit in das konische Zentrifugenröhrchen zu zwingen.
7. Kippen Sie das Macro-CON System ungefähr 30 Grad von der Horizontalallage und schrauben Sie die Filtrationseinheit vollständig vom konischen Zentrifugenröhrchen ab.
8. Verwerfen Sie die Filtrationseinheit und das Para-Pak Probengefäß und gehen Sie dabei nach den in Ihrem Labor festgelegten Verfahren zur Beseitigung von Fäkalproben vor.
9. Geben Sie 10 % Formalin hinzu, um den Füllstand der gefilterten Probe bis zur gepunkteten Linie auf dem Para-Pak Macro-Con Etikett zu bringen.
10. Geben Sie 5 mL Ethylazetat (oder Diethyläther, optional) in das konische Zentrifugenröhrchen. Schrauben Sie die mitgelieferte Schraubkappe sicher auf das Zentrifugenröhrchen auf. (Hinweis: Verwenden Sie die Schraubkappe vom ursprünglichen Probengefäß nicht, da dies sonst zum Auslaufen der Probe und zu Kontamination führen könnte.)
11. Schütteln Sie das Röhrchen 60 Sekunden lang kräftig. Bei der Verwendung von Diethyläther, lockern Sie die Kappe auf dem konischen Zentrifugenröhrchen, um den Druck vor der Zentrifugierung abzulassen.
12. Schrauben Sie die Kappe wieder fest auf das konische Zentrifugenröhrchen auf und zentrifugieren Sie es zehn Minuten lang bei 500 xg (1800-2200 Umdrehungen pro Minute bei den meisten Tischzentrifugen).
13. Gießen Sie die Überstandsflüssigkeit und die Verschmutzungsschicht ab und **HALTEN SIE DAS RÖHRCHEN IN DER GEKIPPTEN POSITION.**
14. **HALTEN SIE DAS RÖHRCHEN IN DER GEKIPPTEN POSITION** und reinigen Sie die Innenwände mit einem oder zwei Wattestäbchen, um verbleibende Verschmutzungen und Ethylazetat zu entfernen (dieser Schritt kann weggelassen werden, wenn Diethyläther verwendet wird). **Wenn Sie das überschüssige Ethylazetat zurück in das Sediment laufen lassen, führt dies zu einem schlechten Nasspräparat, weil sich Lösungsmittelblasen bilden.** Das festgepackte Sediment am Boden des Röhrchens enthält die parasitischen Elemente.
15. Geben Sie ein paar Tropfen 10% Formalin oder physiologische Kochsalzlösung hinzu und mischen Sie es mit dem Sediment. Wenn ein permanent gefärbter Objektträger von einem Para-Pak LV-PVA konzentrierten Material gewünscht wird, sollte das körnige Sediment in ein paar Tropfen LV-PVA aufgelöst werden. Lassen Sie das Sediment sich eine Minute setzen.
16. Die zu examinierende Probe sollte mit einer 5-9 inch-Kapillarpipette von der oberen Hälfte des erneut suspendierten Materials abgezogen werden. Diese Portion enthält die größte Anzahl an Parasiten und weist keine größeren, dichten Partikel auf, die das Nasspräparat stören könnten. Geben Sie 1-2 Tropfen aus der Kapillarpipette auf einen Objektträger, legen Sie ein Deckglas auf die Suspension und untersuchen Sie die Probe unverzüglich. Wenn ein Nasspräparat mit dem resuspendierten körnigen Sediment erstellt wird, sollte die Einbettung so dünn sein, dass man die Zeitung durch den präparierten Objektträger hindurch lesen kann.
17. Wenn die Jodfärbung gewünscht ist, geben Sie einen einzigen Tropfen Lugols Jodlösung aus einer Kapillarpipette auf den Objektträger und geben einen Tropfen des wieder in Suspension gebrachten Sediments hinzu. Legen Sie ein Deckglas auf die Suspension und untersuchen Sie die Probe unverzüglich.
18. Das übrige Sediment kann zu einer Untersuchung auf *Cryptosporidium* und *Isospora belli* verwendet werden. Dünne Ausstriche können für säurefeste Färbung erstellt werden. Flotation mit Sheather's -Zuckerlösung kann ebenfalls durchgeführt werden.^{6, 9, 12, 16}

HINWEIS: In seltenen Fällen kann eine Probe extrem dick oder mukös sein, so dass ein vorläufiger Waschschriff -notwendig ist. Das Waschen in physiologischer Kochsalzlösung oder Leitungswasser kann zwischen den Schritten 8 und 9 vorgenommen werden. Das gewässerte Material sollte wie in Schritt 12 zentrifugiert werden.

C. VERFAHREN FÜR FRISCHE STUHLPROBEN

Mit diesem Verfahren kann die Konzentrationstechnik in einem sauberen Para-Pak Probenentnahmegefäß nach der Amöbenkultur, dem Anzüchten von Hakenwurmlarven und der Untersuchung auf okkultes Blut oder Stuhlfett vorgenommen werden.

3-5 g Stuhl sind zur Zugabe von 15 mL 10 % Formalin angemessen.

1. Geben Sie 15 mL 10 % Formalin zu 3-5 g Stuhlprobe in einem sauberen Para-Pak Fläschchen.
2. Mischen Sie den Inhalt gründlich.
3. Lassen Sie die Lösung dreißig Minuten lang bei Raumtemperatur stehen, um eine adäquate Fixierung zu erreichen.
4. Befolgen Sie die in Abschnitt B, Verarbeitung der Probe, Schritt 1 bis 18 beschriebene Methode.

QUALITÄTSKONTROLLE

Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch. Die Macro-CON Filtrationseinheiten sollten frei von jeder Art von Sprüngen sein. Das Maschensieb sollte eine uniforme Erscheinung aufweisen.

Das Tensid sollte frei von jeglicher bakteriellen oder fungalen Kontamination 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.

LEISTUNGSMERKMALE

Klinische Daten

Die Leistung des Para-Pak Macro-CON Konzentrationsgeräts wurde durch den Vergleich mit einem herkömmlichen Laborverfahren an zwei getrennten Orten evaluiert. Mit LV-PVA oder 10 % Formalin konservierte Proben wurden mit dem Macro-CON System (MC) und einem herkömmlichen Laborverfahren (CLP) konzentriert. Nachdem der vorhandene Parasit bzw. die Parasiten identifiziert worden waren, wurde jede Sepzies in jedem System aufgezählt.

Die Daten drücken die Anzahl der Isolierung jedes Organismus. Ein Zählungsbereich ist ebenfalls für jedes System eingeschlossen.

In sechs Fällen isolierte nur ein System ein Organismus. In jedem Fall wurden weniger als < 2 Organismen proGesamtdeckglas im positiven System gezählt.

TESTSPEZIFITÄT

IDENTIFIKATION

	MC	BEREICH	CLP	BEREICH
<i>Ascaris lumbricoides</i>	24	16-390/CS	24	11-582/CS
<i>Giardia lamblia</i>	22	1/LPF-10+/HPF	22	,5/LPF-3/HPF
Hookworm	24	1-3,6 6/LPF	23	0-3,3/LPF
<i>Trichuris trichura</i>	20	0-100+/CS	23	1-100+/CS
<i>Entamoeba coli</i>	14	7/CS-25+/LPF	14	7/CS-20 LPF
<i>Endolimax nana</i>	9	,3-,9/HPF	9	2-5,2/HPF
<i>Entamoeba histolytica</i>	9	,6-13/HPF	9	,6-9/HPF
<i>Clinorchis sinensis</i>	6	4-50/CS	6	5-89/CS
<i>Strongyloides stercoralis</i>	5	0-15/CS	7	1-47/CS
<i>Hymenolepis nana</i>	7	15/CS-6,1/LPF	7	15/CS-19,8/LPF
<i>Taenia saginata</i>	4	1-248/CS	4	3-154/CS
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	,9-11/HPF	4	1,2-20/HPF
<i>Cryptosporidium</i> sp.	1	3-HPF	1	3/HPF
<i>Entamoeba hartmanni</i>	6	,3-5/HPF	6	,3-4,5/HPF
<i>Opisthorchis viverrini</i>	2	31-147/CS	2	25-186/CS
<i>Diphyllobothrium latum</i>	3	46-800+/CS	3	100-800+/CS
<i>Isospora belli</i>	1	15/HPF	1	15/HPF
<i>Entamoeba polecki</i>	1	3,1/LPF	1	2,3/LPF

HPF: High powered field, starke Vergrößerung
LPF: Low powered field, schwache Vergrößerung
CS: Deckglas

In einem klinischen Labor im Mittleren Westen der USA wurden durchfallartige Stuhlproben, die für andere Verfahren als eine Untersuchung auf Eir and Parasiten abgegeben worden waren, mit den zuvor beschriebenen Verfahren konzentriert. Von 25 untersuchten Proben fielen alle mittels MC und CLO negativ aus.

REFERENCES

1. ASMT. Recommended procedures for the examination of clinical specimens submitted for the diagnosis of parasitic infections. Am J Med Technol 1978;44:1101-1106.
2. American Society of Parasitologist. Procedures suggested for use in examination of clinical specimens to parasitic infection. J Parasitol 1977;63:959-960.
3. Brooke MM. Intestinal and urogenital protozoa, Manual of clinical microbiology 2nd ed. Washington DC: ASM; 1974 582-601.
4. Burrows RB. Microscopic diagnosis of the parasites of man. Yale University Pres, New haven, 1965 p. 319-381.
5. Garcia LS and Ash LR. Diagnostic parasitology. 2nd ed. The CV Mosby Co; 1979. p.1-18.
6. Garcia LS, Brewer TC, Bruckner DA and Schimizu RY. Clinical laboratory diagnosis of cryptosporidium from human fecal specimens. Clin Microbiol Newsl 1982;4:136-137.
7. Garcia LS and Shimizu R. Comparison of clinical results for the use of ethyl acetate and diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique performed on polyvinyl alcohol preserved specimens. J Clin Microbiol 1981;13:709-713.
8. Garcia LS and Voge M. Diagnostic clinical parasitology: I proper specimen collection and processing. Am J Med Technol 1980;46:459-467.
9. Ma P and Soave R. Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with pretracted watery diarrhea. J Infect Dis 1983;147:824-828.
10. Maldonado JF, Acosta-Matienzo J and Velez-Herrera F. Comparative value of fecal examination procedures in the diagnosis of helminth infections. Exptl Parasitol 1953;2:403-416.
11. Melvin DM and Brooke MM. 1. Laboratory procedures for the diagnosis of intestinal parasites, US DHEW. 98079:8282, CDC Atlanta, GA, 23-65.
12. Ng E, Markell EK, Fleming RL, and Fried M. Demonstration of isospora belli by acid-fast stain in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. J Clin Microbiol 1984;20:384-386.
13. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examination. Bull. US Army Med Dept 1948;8:326.
14. Rohrbacher GH. The recovery of nematode larvae by baermann apparatus as affected by a detergent. Proceedings of the helminth. Soc 1957;24:24-25.
15. Yang J and Scholten TH. A fixative for intestinal parasites permitting the use of concentration and permanent staining procedures. Am J Clin Pathol 1977;67:300-304.
16. Young KH, Bullock S, Melvin DM and Sprull CL. 1. Ethyl Acetate as a substitute for diethyl ether in the ether-formalin sedimentation technique. J Clin Microbiol 1979;10:852-853.
17. Zierdt WS.. Concentration and identification of cryptosporidium sp by use of a parasite concentrator. J Clin Microbiol 1984;20:860-861.



SN10600

REV. 04/24

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

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

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

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

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

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