

## A.L.L. SOLUTION

Confezione da 50 ml di soluzione idonea al trattamento di fluidificazione per escreato, bronco aspirato, urine ed altri campioni organici pervenuti in Laboratorio per la ricerca del bacillo di Koch.

**CONTENUTO DEL FLACONE:**

Soluzione acquosa di N-acetilL-cisteina, EDTA sale sodico, saponina, sodio idrossido, polipropilenglicolo.

**AVVERTENZE:**

A.L.L. Solution ha un aspetto da limpido a leggermente opalescente. Nel caso si osservasse una vistosa torbidità si raccomanda di non utilizzarla.

**CONSERVAZIONE:**

Conservare a 15-25°C.

### METODO D'IMPIEGO

**RACCOLTA DEI CAMPIONI**

Raccogliere il materiale pervenuto al Laboratorio all'interno di un tubo da centrifuga da 50 ml. Per le urine utilizzare 2 tubi (100 ml).

**FLUIDIFICAZIONE + DECONTAMINAZIONE:**

Aggiungere al materiale pervenuto 2,5 ml di "ALL SOLUTION", aggiustare il volume a circa 10 ml ed agitare; aggiungere 10 ml di "DIGESTION REAGENT", vortexare incubare a 37°C per 5 minuti ed agitare su piano rotante per 10 minuti.

Per il trattamento di liquidi cefalorachidiani procedere come per escreti e bronco aspirati. Con questo materiale il trattamento con "ALL SOLUTION" e la diluizione sino a 10 ml totali è utile per l'allontanamento di eventuali frazioni proteiche presenti, diminuendo il rischio di presenza di sostanze che potrebbero interferire nel caso si procedesse ad amplificazione.

Per le urine utilizzare i 2 tubi (100 ml), centrifugare ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di sedimentazione di 3.000 g. per 20 minuti, allontanare con pipetta Pasteur il sovrantante, riunire i due sedimenti in un unico tubo lavando bene le pareti con acqua distillata sterile e portare il volume a 40 ml, vortexare per allontanare dal sedimento eventuali sostanze inibitrici l'amplificazione (tale passaggio può essere omesso nel caso di solo esame culturale). Procedere ad una seconda centrifugazione con le modalità precedenti, allontanare con pipetta Pasteur il sovrantante e risospendere il sedimento con 7/8 ml di acqua distillata sterile. Aggiungere 2,5 ml di "ALL SOLUTION" ed agitare, aggiungere 10 ml di "DIGESTION REAGENT", vortexare incubare a 37°C per 5 minuti ed agitare su piano rotante per 10 minuti.

Per liquidi seminali da sottoporre alla ricerca di *Mycobacterium tuberculosis* complex mediante tecniche di amplificazione è preferibile procedere ad un lavaggio preventivo del materiale allo scopo di allontanare eventuali sostanze inibitrici l'amplificazione, procedere come di seguito:

Aggiungere al materiale pervenuto 2,5 ml di "ALL SOLUTION" ed agitare, portare a 30/35 ml con acqua distillata sterile e vortexare a brevi intervalli avendo cura di disperdere in maniera omogenea il liquido seminale, centrifugare ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di sedimentazione di 3.000 g. per 20 minuti, allontanare con pipetta Pasteur il sovrantante. Procedere ad una seconda centrifugazione con le modalità precedenti, allontanare con pipetta Pasteur il sovrantante e risospendere il sedimento con 10 ml di acqua distillata sterile. Aggiungere 10 ml di "DIGESTION REAGENT", vortexare incubare a 37°C per 5 minuti ed agitare su piano rotante per 10 minuti.

Per eventuali liquidi cavitari (versamento pleurico-versamento peritoneale) che non fossero stati raccolti negli appositi tubi (ALL COLLECTION KIT ( Cat.N° 225001N) occorre effettuare un arricchimento preventivo per centrifugazione ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di sedimentazione di 3.000 g. per 20 minuti dopo aver diluito il campione con acqua distillata sterile (portare a 50 ml). Ciò è necessario poiché il peso specifico dei liquidi cavitari, specie del versamento pleurico, è molto vicino al peso specifico dei micobatteri. Tale fatto renderebbe meno efficace la centrifugazione finale. Allontanare con pipetta Pasteur il sovrantante e risospendere il sedimento con 10 ml di acqua distillata sterile. Aggiungere a questo sedimento 10 ml di "DIGESTION REAGENT", vortexare, incubare a 37°C per 5 minuti ed agitare su piano rotante per 10 minuti.

**NEUTRALIZZAZIONE:**

Neutralizzare portando a 40 ml con "PHOSPHATE BUFFER" a pH 6,8 e vortexare nuovamente.

**SEDIMENTAZIONE:**

Centrifugare ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di sedimentazione di 3.000 g. per 20 minuti, allontanare con pipetta Pasteur il sovrantante e rilavare il fondello con 10/15 ml di "PHOSPHATE BUFFER", dopo una nuova centrifugazione allontanare con pipetta Pasteur il sovrantante, risospendere il sedimento in 2 ml di "PHOSPHATE BUFFER". Tale sedimento può essere impiegato per tutte le tecniche indicate.

**Feci:** Trattandosi di materiale fortemente contaminato, è indispensabile un trattamento decontaminante particolarmente energico. In un provettone da centrifuga da 50 ml una palettata di feci viene stemperata in 20 ml di "ALL SOLUTION" ed omogeneizzata al vortex, vengono aggiunti 20 ml di acqua distillata sterile e dopo agitazione si procede a centrifugazione ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di sedimentazione di 3.000 g. per 20 minuti. Allontanato con pipetta Pasteur il sovrantante, risospendere il sedimento in 20 ml di acqua distillata sterile, aggiungere 20 ml di "DIGESTION REAGENT", vortexare, incubare a 37°C per 10 minuti ed agitare su piano rotante per 20/30 minuti.

Centrifugare ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di sedimentazione di 3.000 g. per 20 minuti, allontanare con pipetta Pasteur il sovranatante e risospendere il sedimento con 30 ml di "PHOSPHATE BUFFER" vortexando, centrifugare nuovamente ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di 3.000 g. per 20 minuti. Allontanare con pipetta Pasteur il sovrinatante e rilavare 2 volte il fondello con 35 ml di "PHOSPHATE BUFFER", vortexando e centrifugando ogni volta ad un N° di giri sufficienti a raggiungere una forza di sedimentazione di 3.000 g. per 20 minuti. Al termine allontanare con pipetta Pasteur il sovrinatante, e risospendere il sedimento con circa 2 ml di "PHOSPHATE BUFFER".  
Tale sedimento può essere impiegato per tutte le tecniche indicate.

**CONFEZIONE****225020                      A.L.L. Solution                      50 mL****DELLA STESSA LINEA SONO DISPONIBILI**

<b>2203454</b>	<b>Digestion Reagent</b>	<b>500 mL</b>
<b>225040</b>	<b>Phosphate Buffer 0.067M pH 6.8</b>	<b>500 mL</b>
<b>225001N</b>	<b>A.L.L. Collection Kit</b>	<b>25 provette x 1 mL</b>
<b>225000</b>	<b>A.L.L. Digestion Neutralisation Kit</b>	<b>20 test</b>

**PRODUTTORE**

Biolife Italiana Srl

**CND W05019003****SCHEMA DI LAVORO****Raccolta:**

Raccogliere il materiale pervenuto al Laboratorio in un tubo da centrifuga da 50 ml.

**Fluidificazione + Decontaminazione:**

Aggiungere 2.5 ml di "ALL SOLUTION",  
aggiustare il volume a 10 ml ca,  
aggiungere 10 ml di "DIGEST KIT",  
vortexare, incubare a 37°C per 5', agitare  
su piano rotante per 10'

**Neutralizzazione:**

Neutralizzare portando a 40 ml con  
"PHOSPHATE BUFFER" a pH 6,8  
vortexare nuovamente

**Sedimentazione:**

Centrifugare ad un n° di giri sufficienti a  
raggiungere una forza di sedimentazione di  
3.000 g. per 20 minuti, allontanare con  
pipetta Pasteur il sovrinatante

Lavare il sedimento con 10/15 ml di  
"PHOSPHATE BUFFER", dopo una nuova  
centrifugazione allontanare con pipetta Pasteur  
il sovrinatante, risospendere il sedimento in 2  
ml di "PHOSPHATE BUFFER" o di acqua  
distillata sterile .  
Il sedimento è pronto per l'uso