ELIstain Paratest

Färbung und Konzentration von parasitären Elementen im Stuhl

100 Tests
(Ref. 66702)

8000320-DE-2025-09_V3

Zur in-vitro-Diagnostik, für den professionellen Einsatz.

1 - ZIEL

ELIstain Paratest ermöglicht die Durchführung von:

- direkte Untersuchung von parasitärer Elementen im Stuhl mit **R1** Reagenz (Para-Color-Lösung)
- konzentration an parasitären Elementen basierend auf der Bailenger-Methode mit Färbung durch **R1** Reagenz.

Jedes Kit ermöglicht die Durchführung von 100 Tests.

2 - EINFÜHRUNG

Viele Parasiten (Protozoen – Helminthen) können intestinale und hepatische Ereignisse verursachen. Die Gegenwart dieser Parasiten im Darm oder in den Gallengängen wurde durch Gegenwart dieser Parasiten im Darm oder in den Gallengängen wurde durch makroskopische und mikroskopische Untersuchung des Stuhls. Klinische Manifestationen, Patientenuntersuchung einschließlich der Vorstellung, in endemischen Gebieten zu leben, Testergebnisse wie Bluthypereosinophilie direkte parasitologische Diagnose und Techniken zu implementieren. (1,2).

3 - GRUNDSATZ

Direkte Untersuchung nach Anfärbung durch R1-Reagenz (Para-Color-Lösung)

Para-Color ist ein differentielles Färbeverfahren von parasitären Elementen unter Verwendung einer Mischung von Färbemitteln, von denen eines Lugol ist. Seine Verwendung erleichtert den Nachweis von parasitären Elementen, die auf einem mehr oder weniger dunkelblauen Hintergrund gelb, gelb-orange oder bräunlich-gelb erscheinen. (1,3).

Konzentration von parasitären Elementen auf Basis der Bailenger-Methode mit Anfärbung durch R1-Reagenz (Para-Color-Lösung)

Zweiphasiges Konzentrationsverfahren unter Verwendung von Ether als organischem Lösungsmittel und **R2** Reagenz (eine pH5 Acetoacetat-Pufferlösung) als wässrige Phase. Die Untersuchung von Sedimenten erfolgt nach Anfärbung mit R1-Reagenz , das den Nachweis von parasitären Elementen erleichtert, die gelb, gelb- orange oder bräunlich gelb auf mehr oder weniger dunkelblauem Hintergrund. (1,3).

4 - REAGENZIEN UND MATERIAL

Beschreibung	Menge
R1: Durchstechflasche mit 4,5 mL Para-Color-Lösung.	**1**
R2: Durchstechflasche mit 750 mL Acetoacetatpuffer pH 5 Lösung.	**3**
TUBE - 30 mL: konische Tuben mit 30 mL.	**100**
TUBE - 10 mL: konische Röhrchen mit 10 mL.	**100**
SPATEL: Spatel.	**100**

5 - VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Reagenzien sind nur für *die In-vitro*-Diagnostik bestimmt und dürfen von autorisierten und geschulten Personen gehandhabt werden.
- Die Tests sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Patientenproben sind potenziell infektiös. Sie müssen mit Vorsicht und unter Beachtung der Hygienevorschriften und der geltenden Vorschriften für diesen Produkttyp im Einsatzland gehandhabt werden.
- Verwenden Sie keine Reagenzien über das Verfallsdatum hinaus.

PARA-COLOR GHS02 – GHS08 – GHS07

H225: Leicht entzündliche Flüssigkeit und Dampf.

H315: Verursacht Hautreizungen.
H319: Verursacht schwere Augenreizungen.

H373: Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.

P210: Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.
P235: Kühl halten.
P260: Dämpfe nicht einatmen.
P403: An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.

6 – PROBENAHME UND BEHANDLUNG

Alle Stühle sollten ohne Urin (der Protozoen abtötet) und in einem sauberen, trockenen und transparenten Behälter, aber nicht unbedingt steril, gesammelt werden. Aufgrund der Zerbrechlichkeit einiger parasitärer Stadien als vegetative Formen von Protozoen vegetative Formen, ist es empfohlen, Stuhl so bald wie möglich nach ihrer Abholung zu behandeln, entweder innerhalb von 6 Stunden, wenn die Probe bei Raumtemperatur gelagert wird, oder innerhalb von 2-3 Tagen, wenn sie bei 2-8 °C, in ihrem Originalbehältnis oder in Suspension in Acetoacetatpuffer gelagert wird.

7 – LAGERUNG UND HERSTELLUNG VON REAGENZIEN

Alle Reagenzien sind gebrauchsfertig. Die bei 18-25°C lichtgeschützt gelagerten Reagenzien sind bis zu dem auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum stabil. Sie dürfen nicht eingefroren werden.

8 - ERFORDERLICHES, NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- Automatische Pipette(n) mit einem an die zu messende Menge angepassten Pipettiervolumen;
- Hämolyse Schläuche;
- Ether oder Ethylacetat;
- Pasteurpipetten;
- Objektträger + Abdeckgläser für die Mikroskopie;
- Behälter für kontaminierte Abfälle
- Physiologische Kochsalzlösung;
- Vortex;
- Zentrifuge;
- Mikroskop

9 – METHODE

Direkte Untersuchung nach Anfärbung durch R1-Reagenz (Para-Color-Lösung)

a. homogenisierte Stühle.
b. Nehmen Sie ein Stuhlvolumen, das der Größe einer Erbse entspricht (300 mg +/- 50 mg unabhängig von der Konsistenz) und legen Sie es in ein Hämolyseschlauch mit 1 mL Verdünner (physiologische Kochsalzlösung, destilliertes Wasser oder **R2**-Reagenz).
c. Verreiben und schütteln, um eine homogene Suspension zu erhalten (Vortex shaker).
d. Geben Sie mit der Mikropipette 10 µL **R1**-Reagenz auf einen Objektträger.
e. Mit der Pasteur-Pipette 1 Tropfen (oder mit der Mikropipette 25 µL) Für eine kleine der zu untersuchenden Stuhlsuspensionen.
f. Gut mischen.
g. Legen Sie ein Deckglas über die Stuhlsuspension und untersuchen Sie mit einem weißen Licht (blauer Filter).

Hinweis: Das Präparat muss unvorbereitet gelesen werden, um eine Lyse bestimmter zerbrechlicher parasitärer Elemente zu vermeiden.

Konzentration parasitärer Elemente nach Bailenger-Methode mit Färbung durch R1-Reagenz (Para-Color-Lösung)

a. Gießen Sie 20 mL R2 -Reagenz in ein konisches 30-mL-Röhrchen.
b. Homogenisierte Stühle.
c. Nehmen Sie das Äquivalent eines Knopfes der Stühle (3 bis 4 g oder 3 bis 4 mL, wenn die Stühle flüssig sind) und legen Sie es in **R2** -Reagenz.
d. Verreiben Sie den Stuhl mit einem Spachtel und schütteln Sie die Mischung kräftig bis man erhält eine homogene Suspension (Wirbelschüttler).
e. Lassen Sie die Mischung für 2 oder 3 Minuten für die Sedimentation der gröbere Partikel.
f. Gießen Sie 5 mL Überstand in ein konisches 10-mL-Röhrchen.
g. 2,5 bis 3 mL Ether zugeben.
h. Schlauch verstopfen und kräftig schütteln, um eine Emulsion zu erhalten (schütteln manuell oder mit einem Wirbelschüttler).
i. Nehmen Sie den Stopfen aus dem Rohr und zentrifugieren Sie die Mischung (150-200 g) für 5 minuten, um die Emulsion zu „spalten“.
j. Bei Gelierung in der höheren Phase (durch lipophile Rückstände) die Emulsion mit der Pasteur-Pipette von den Rohrwänden lösen.
k. Beseitigen Sie den Überstand, indem Sie das Röhrchen auf den Kopf stellen.
l. Legen Sie das Sediment in eine Suspension mit 1 oder 2 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung (lassen Sie das Sediment nicht austrocknen)
m. Geben Sie mit der Mikropipette 10 µL **R1** Reagenz auf
n. Geben Sie mit der Pasteur-Pipette 1 Tropfen (oder mit der Mikropipette 25 µL) der zu untersuchenden Suspension hinzu.
o. Gut durchmischen.
p. Legen Sie ein Deckglas über die Sedimentsuspension und untersuchen Sie unter dem Mikroskop mit weißem Licht (blauer Filter).

HINWEIS: MÖGLICHKEIT DER VERWENDUNG VON ETHYLACETAT ALS ORGANISCHES LÖSUNGSMITTEL ANSTELLE VON ETHER

Ether (Diethylether - C_2H_5-O-C_2H_5) ist das Referenzlösungsmittel für **Bailenger** Konzentrationsmethode. Es kann durch Ethylacetat in gleichem Volumen ersetzt werden. Es ist es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die Solubilisierung bestimmter Fäkalfragmente mit Ethylacetat schwieriger ist als mit Diethylether. **So kann bei einigen mit Ethylacetat behandelten Stühlen die Grenzschicht dicker sein und das voluminösere Sediment kann zahlreiche nicht parasitäre Elemente aufweisen, die die mikroskopische Beobachtung behindern können.** Es empfiehlt sich dann, das Sediment mit mehr Verdünnungsmittel, beispielsweise mit 4 Tropfen physiologischem Wasser statt 2, zurückzunehmen und mehrere Baugruppen für die mikroskopische Untersuchung anzufertigen.

10 – INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die parasitären Elemente erscheinen gelb, gelb-orange oder bräunlich-gelb auf einem mehr oder weniger dunkelblauen Hintergrund.

11 – FEHLERURSACHEN UND PRÜFGRENZEN

Einige Elemente können zu Verwirrung bei der parasitären koprologischen Diagnose führen. Diese irreführenden Aspekte können die Ursache für falsch-positive Tests sein. Die Erkennung vieler Verdauungsrückstände ist von grundlegender Bedeutung, um Verwechslungen mit parasitären Elementen (z. B. Pollenkorn, Pilzsporen, bestimmte Fruchthaare, Parasiten während des Transports nach der Einnahme kontaminierter Tierleber usw.) zu vermeiden. (4)

Einige nicht resorbierbare Behandlungen können die Wiederherstellung und Sammlung von Parasiten beeinträchtigen (Rizinusöl, Mineralöl, Wismut, Antibiotika, Malariamittel usw.)

Die Suche nach Parasiten muss von in der parasitären Koprologie geschultem und qualifiziertem Personal durchgeführt werden.

Eine einzige Untersuchung der parasitären Elemente des negativen Stuhls ist wertlos. Die Untersuchung muss unter Berücksichtigung des Vorliegens von Perioden der Verstümmelung bei der Expression bestimmter Parasiten wiederholt werden. Im Falle eines negativen Stuhlgangs ist es notwendig, zwischen jeder Entnahme 2 zusätzliche Proben im Abstand von 4-5 Tagen zu entnehmen.

In allen Fällen und vor der Erstellung der endgültigen Diagnose muss die Testinterpretation unter Einbeziehung aller klinischen, epidemiologischen und biologischen Daten und der anderen Testergebnisse durchgeführt werden.

12- QUALITÄTSKONTROLLE

12.1 - DIREKTE UNTERSUCHUNG

Die Qualitätskontrolle kann aus den von den Unternehmen KaliDiv und Eurobio SCIENTIFIC verkauften Kontrollen durchgeführt werden:

- Stuhlsuspension mit *Giardia duodenalis-Zysten* (Ref. CQI KD-Col/PM/Susp-G.dK bei KaliDiv): Subsphärisch (7-10 µm x 8-12 µm), enthält zwei oder vier Kerne, je nach Reifegrad und Rückständen von Geißeln und Mediankörpern. Gelbe bis orange-gelbe Färbung auf blauem Hintergrund.
- Stuhlsuspension mit vegetativen Formen von *Entamoeba histolytica* (Ref. CQI KD/Col/PM/Susp-Eh Fv von KaliDiv): Größe von 15 bis 40 µm mit einem leicht gefärbten Ektoplasma und einem granulären Endoplasma. Der Kern ist groß, 6-8 µm. Es hat ein regelmäßiges und „perlenförmiges“ feines peripheres Chromatin mit einem

kleinen zentralen oder subzentralen Karyosom. Gelbe bis orange-gelbe Färbung auf blauem Hintergrund.
- Stuhlsuspension mit *Trichuris trichiura* Eiern (Ref 1809-CQI von Eurobio SCIENTIFIC): Zitronenförmige Eier mit einem klaren Deckel an beiden Enden. Gelbe bis orange-gelbe Färbung auf blauem Hintergrund.

12.2 – KONZENTRATIONSMETHODE

Die Qualitätskontrolle kann aus dem von der Firma KaliDiv vertriebenen CQI KD-TraceColor/Part control erfolgen. Die Kontrolle besteht aus gefärbten synthetischen Partikeln, deren Größe (25 – 100 µm) und (hydrophile) Natur die bestimmter parasitärer Elemente nachahmen.

Der während des Tests erhaltene Konzentrationsfaktor muss größer oder gleich 10 sein.

13 – LEISTUNG

Eine vergleichende Studie zur Suche nach parasitären Elementen wurde an 83 Stuhls mit konventionellen Techniken (direkte Untersuchung ohne Fleckenbildung Bailenger ohne Färbung) und ELIstain Paratest-Kit. Zur direkten Untersuchung und Untersuchung nach Konzentration, qualitativ, identische Ergebnisse wurden mit den verschiedenen Techniken in Bezug auf Identifikation von Parasiten und parasitärem Stadium. Es wurde festgestellt, dass das **R1-**Reagenz (Para-Color-Lösung) ermöglicht eine einfachere Ablesbarkeit. Bei einer kleinen Anzahl von Stühlen wurden Unterschiede festgestellt, die jedoch als unbedeutend angesehen wurden, da sie weniger als 30 % zwischen den verwendeten Techniken betrugen. Alle Ergebnisse kamen zu dem Schluss, dass Techniken unter Verwendung von Reagenzien des ELIstain Paratest erlaubt Nachweis mindestens gleich der der Standardtechniken.

Die Leistungsbewertung der ELIstain Paratest-Methode wurde im Vergleich zu herkömmlichen Konzentrationsmethoden (MIF, Bailenger und modifiziertes Ritchie) durchgeführt (5). Die Nachweisleistung von Darmparasitenerkrankungen, Sensitivität, Spezifität, positive und negative Vorhersagewerte jeder Methode wurden berechnet und als Prozentsätze mit 95 % Konfidenzintervallen ausgedrückt. Hinweis: In Ermangelung einer standardisierten Referenzmethode wurden die Ergebnisse, die nach der Kombination mehrerer Techniken sowohl bei der direkten Untersuchung als auch bei der Untersuchung nach der Konzentration erhalten wurden, als Referenz betrachtet. Die bei der Konzentrationsmethode von parasitären Elementen nach der ELIstain-Paratest-Methode erzielten Leistungen werden im Folgenden beschrieben:

Arten	Empfindlichkeit	Spezifität	PPV	NPV
Endolimax nana	88,8 % IC à 95 % [82,5 - 95%]	89,5 % IC à 95 % [75,7 - 100%]	97,7 % IC à 95 % [91,8 - 99,5%]	60,7 % IC à 95 % [50,4 - 70,1%]
Giardia intestinalis	100 % IC à 95 % [100 - 100%]	97,20 % IC à 95 % [91,9 - 100%]	98,7 % IC à 95 % [93,2 - 99,8%]	100 % IC à 95 % [100 - 100%]
Blastocystis hominis	82,9 % IC à 95 % [75,6 - 100%]	75 % IC à 95% [50,5 - 99,5%]	96,7 % IC à 95% [90,4 - 99,1%]	33,3 % IC à 95 % [24,3 - 43,5%]
Ascaris lumbricoides	100 % IC à 95 % [100 - 100%]	100 % IC à 95 % [100 - 100%]	100 % IC à 95 % [100 - 100%]	100 % IC à 95 % [100 - 100%]
Trichuris trichiura	100 % IC à 95 % [100 - 100%]	100 % IC à 95 % [100 - 100%]	100 % IC à 95 % [100 - 100%]	100 % IC à 95 % [100 - 100%]

PPV: Positiver Vorhersagewert
NPV: Negativer Vorhersagewert

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der Trümmermenge zwischen den Techniken beobachtet. Die Dichte dieser Trümmer im Sediment bei Verwendung traditioneller Ritchie- und MIF-Techniken verhinderte jedoch eine vollständige Ablesung im Vergleich zu den ELIstain Paratest-Kit-Techniken. In Bezug auf die Morphologie wurde beobachtet, dass 11,6 % der Parasiten mit der ELIstain Paratest-Parasitenkonzentrationsmethode im Vergleich zu 7, 13,7 bzw. 11,9 % mit der herkömmlichen Bailenger-Methode, herkömmlichem MIF und modifiziertem Ritchie verändert wurden.

13.1 – Wiederholbarkeit (direkte Prüfung)

Bei den internen Qualitätskontrollen von *Trichuris trichiura-Eiern*, der vegetativen Form *von Entamoeba histolytica* und *Giardia duodenalis-Zysten*, hat das Para-Color-Reagenz eine 100% ige Wiederholbarkeit in Bezug auf den Parasitennachweis bei 10 durchgeführten Färbungstests.

13.2 – Wiederholbarkeit (Konzentrationsmethode)

Die Wiederholbarkeitsprüfung des ELIstain Paratest-Geräts wurde unter Verwendung einer internen Qualitätskontrolle vom Lösungstyp durchgeführt, die eine bekannte Konzentration an Partikel-Tracer enthielt. Das Gerät hat eine 100% ige Wiederholbarkeit über 10 Konzentrationstests, wobei die Konzentrationskoeffizienten größer als 10 sind.

13.3 – Reproduzierbarkeit (direkte Untersuchung)

Bei den internen Qualitätskontrollen von *Trichuris trichiura-Eiern*, der vegetativen Form *von Entamoeba histolytica* und den Zysten von *Giardia duodenalis* hat das Para-Color-Reagenz eine 100% ige Reproduzierbarkeit in Bezug auf den Parasitennachweis bei 10 durchgeführten Färbungstests.

13.4 – Reproduzierbarkeit (Konzentrationsmethode)

Die Reproduzierbarkeitsprüfung des ELIstain Paratest-Geräts wurde unter Verwendung einer internen Qualitätskontrolle vom Lösungstyp durchgeführt, die eine bekannte Konzentration an Partikeltracer enthielt. Das Gerät ist über 20 Konzentrationstests zu 100 % reproduzierbar, wobei die Konzentrationskoeffizienten größer als 10 sind.

14 - ABFALLENTSORGUNG

Abfälle sollten gemäß den Hygienevorschriften und den aktuellen Vorschriften für diese Art von Produkten im Einsatzland. Wenn das Reagenz verschüttet ist, reinigen Sie den Arbeitsbereich mit saugfähigem Papier und spülen Sie mit Wasser. Wenn eine Probe auf den Arbeitsbereich verschüttet wird, reinigen Sie sie mit Bleichmittel und saugfähigem Papier.

15 - LITERATUR

1. Société Française de Microbiologie Toxoplasmose. In : REMIC : Société Française de Microbiologie Ed ; 2022 Chapitre 24 : Infections parasitaires du système digestif.
2. Garcia LS, Arrowood M, Kokoskin E, et al. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Laboratory Diagnosis of Parasites from the Gastrointestinal Tract. Clin Microbiol Rev. 2017 ;31(1) : e00025-17. doi :10.1128/CMR.00025-17
3. ANOFEL. Parasitologie et Mycologie Médicales : Guide Des Analyses et Pratiques Diagnostiques. 2e ed. Elsevier ; 2022. Chapitre 1. Parasitologie : techniques élémentaires.
4. Claude Guiguen, Brice Autier, Jean-Pierre Gangneux, Dominique Chabasse. Coprologie parasitaire : conduite de l'examen et pièges diagnostiques. Revue Francophone des Laboratoires, 2021, 2021 (529), pp.32-42. ff10.1016/S1773-035X(21)00036-8ff. ffhal-03520708f
5. Sow D, Dieng Y, Haouchine D, et al. Comparison of Para-Selles Bailenger/Kop-Color Fumouze, Para-Selles-Iodésine/Kop-Color II Fumouze diagnostic kits with conventional microscopic methods in identifying intestinal parasitic diseases in Senegal. J Parasit Dis. 2017 ;41(3) :814-822. doi :10.1007/s12639-017-0894-6

Alle schwerwiegenden Vorfälle im Zusammenhang mit dem Produkt sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender ansässig ist, zu melden.

Die Änderungen seit der letzten Revision sind grau hinterlegt.

ELITech MICROBIO
Parc d 'activités du Plateau
19 Allée d'Athènes
83870 SIGNES
France
Tel.: +33 (0)4 94 88 55 00
http://www.elitechgroup.com