

ELIstain Paratest

Tinción y concentración de
elementos parásitos en las
heces
100 pruebas
(Ref. 66702)

8000320-es-2012-02

1. OBJETO

ELIstain Paratest permite realizar :

- El examen directo de elementos parásitos en heces con reactivo R1 (Solución Kop-Color)
- La concentración de elementos parásitos basada en el método de Bailenger con tinción por reactivo R1. Cada kit permite realizar 100 pruebas.

2. INTRODUCCIÓN

Muchos parásitos (protozoos - helmintos) pueden causar eventos intestinales y hepáticos. La presencia de estos parásitos en los intestinos o los conductos biliares fue confirmada por examen macroscópico y microscópico de heces. Manifestaciones clínicas, y examen del paciente, incluida la noción de vivir en áreas endémicas, tubo de resultados de pruebas como el diagnóstico parasitológico directo de hipereosinofilia en sangre técnicas en términos de y técnicas a implementar.

3. PRINCIPIO

Examen directo después de la tinción con reactivo R1 (solución Kop-Color) Kop-Color es un proceso de tinción diferencial de elementos parásitos que utiliza una mezcla de agentes de tinción, uno de los cuales es Lugol. Su utilización facilita la detección de elementos parásitos que aparecen en color amarillo, amarillo-anaranjado o amarillo-marrón sobre un fondo más o menos azul oscuro.

Concentración de elementos parásitos basados en el método de Bailenger con tinción por reactivo R1 (solución Kop-Color)

Método de concentración en dos fases utilizando éter como disolvente orgánico y R2. reactivo (una solución amortiguadora de acetoacetato de pH 5) como la fase acuosa. El examen del sedimento se realiza después de la tinción por el reactivo R1 que facilita la detección de elementos parásitos que aparecen en amarillo, amarillo- naranja o amarillo-marrón sobre un fondo más o menos azul oscuro.

4. REACTIVOS Y MATERIAL

| Descripción | Cantidad |
|--|----------|
| R1: vial de 4,5 mL de solución Kop-Color. | 1 |
| R2: vial de 750 mL de tampón aceto-acetato pH5 solución. | 3 |
| TUBO - 30 mL: tubos cónicos de 30 mL. | 100 |
| TUBO - 10 mL: tubos cónicos de 10 mL. | 100 |
| ESPÁTULA: espátulas. | 100 |

5. PRECAUCIONES

- Los reactivos están destinados únicamente al uso de diagnóstico in vitro y deben ser manejados por personal autorizado.
- Las pruebas son para un solo uso.
- Las muestras de los pacientes son potencialmente infecciosas. Deben manejarse con precaución, respetando las normas de higiene y la normativa vigente para este tipo de productos en el país de uso.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.

6. RECOGIDA DE MUESTRAS Y TRATAMIENTO DISOLVENTE ORGÁNICO

Debido a la fragilidad de algunas de las etapas parásitas como formas vegetativas de protozoos, se recomienda tratar las heces tan pronto como sea posible después de su recolección.

7. ESTABILIDAD, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos están listos para usar.

Los reactivos almacenados a 18-25 °C, protegidos de la luz solar, en su embalaje original, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja. No congele el producto.

8. MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Pipeta(s) automática(s) con un volumen de pipeteo adaptado al volumen que se va a medir ;
- Tubos de hemólisis ;
- Éter o acetato de etilo ;
- Pipetas Pasteur ;
- Diapositivas + gafas para microscopía;
- Contenedores de residuos contaminados.
- Solución salina fisiológica;
- Vortex;
- Centrifugadoras;
- Microscopio;

9. MÉTODO

Examen directo después de la tinción por reactivo R1 (Kop-Color solución)

- Homogeneizar heces.
- Sacar un volumen de heces equivalente al tamaño de un guisante y hemólisis de laboratorio que contiene 1 ml de diluyente (solución salina fisiológica, agua destilada o el reactivo R2)
- Triturarlo y agitarlo para obtener una suspensión homogénea (Vortex agitador).
- Usando la micropipeta, colocar 10 µL de reactivo R1 en un portaobjetos.
- Usando la pipeta Pasteur, añadir 1 gota (o, usando la micropipeta, añadir 25 µL) parte de la suspensión de heces.
- Mezclar bien.
- Colocar un vidrio de cubierta sobre la suspensión de heces y examinar mediante el uso de un microscopio que tiene una luz blanca (filtro azul).

Concentración de elementos parásitos basada en el método de Bailenger con tinción por reactivo R1 (solución Kop-Color)

- Verter 20 mL de reactivo R2 en un tubo cónico de 30 mL.
- Homogeneizar las heces
- Sacar el equivalente a un botón de las heces (3 a 4 g o 3 a 4 ml si las heces son fluidas) y colocarlas en el reactivo R2.
- Triturar las heces con una espátula y agitar la mezcla vigorosamente hasta se obtiene una suspensión homogénea (agitador Vortex).
- Permitir que la mezcla se asiente durante 2 o 3 minutos para la sedimentación de las partículas más gruesas.
- Verter 5 ml de sobrenadante en un tubo cónico de 10 ml.
- Añadir de 2,5 a 3 ml de éter.
- Tapar el tubo y agitar enérgicamente para obtener una emulsión (agitar manualmente o con un agitador Vortex).
- Sacar el tapón del tubo y centrifugar la mezcla (150-200 g) para 5 minutos para «romper» la emulsión.
- En el caso de gelificación en la fase superior (debido a residuos lipófilos), soltar la emulsión de las paredes del tubo utilizando la pipeta Pasteur.
- Eliminar el sobrenadante girando el tubo boca abajo.
- Colocar el sedimento en una suspensión usando 1 o 2 gotas de solución salina fisiológica (no permita que el sedimento se seque).
- Usando la micropipeta, colocar 10 µL de reactivo R1 en un portaobjetos.
- Con la pipeta Pasteur, añadir 1 gota (o, con la micropipeta, añadir 25 µL) de la suspensión a examinar.
- Mezclar bien.
- Colocar un cubrevidrios sobre la suspensión de sedimento y examinar bajo un microscopio usando una luz blanca (filtro azul).

N.B.: POSIBILIDAD DE UTILIZAR ACETATO DE ETILO COMO EN LUGAR DE ÉTER

Éter (éter dietílico—C₂H₅—O—C₂H₅) es el disolvente de referencia para el método de concentración Bailenger.

Se puede reemplazar por acetato de etilo en igual volumen. Es sin embargo, es necesario tener en cuenta que la solubilización de ciertos fragmentos fecales es más difícil con acetato de etilo que con éter dietílico. **Por lo tanto, con algunas heces tratadas con acetato de etilo, la capa de interfaz puede ser más gruesa y el sedimento más voluminoso puede presentar numerosos elementos no parasitarios que pueden obstaculizar la observación microscópica.** A continuación, es aconsejable recuperar el sedimento con más diluyente, por ejemplo con 4 gotas de agua fisiológica en lugar de 2, y realizar varios ensambles para el examen microscópico.

10. INTERPRETACION DE RESULTADOS

los elementos parásitos aparecen en amarillo, amarillo-anaranjado o amarillo-marrón sobre un fondo más o menos azul oscuro.

11. CAUSAS DE ERROR Y LÍMITES DE PRUEBA

- En todos los casos, es necesario que los datos clínicos, epidemiológicos y biológicos se tienen plenamente en cuenta antes de establecer el diagnóstico final.

12. RENDIMIENTO

Se realizó un estudio comparativo para buscar elementos parásitos en 83 heces utilizando técnicas convencionales (examen directo sin tinción Bailenger sin manchas) y kit ELIstain Paratest. Para examen directo y examen después de la concentración, cualitativamente, identificación de parásito y etapa parasitaria. Se observó que el reactivo R1 (solución Kop-Color) permite una lectura más fácil. Cuantitativamente, para una gran cantidad de heces, quistes o huevos que fueron obtenida con las diferentes técnicas fue idéntico o similar. parte de la suspensión de heces. Para examinar número de heces, se observaron diferencias, pero no se consideraron significativas porque fue menos del 30 % entre las técnicas utilizadas. Todos los resultados concluyeron que las técnicas permitió la detección al menos igual a la de las técnicas estándar.

13. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Los residuos deben eliminarse de acuerdo con las normas de higiene y las regulaciones actuales para este tipo de producto en el país de uso. Si el reactivo se derrama, limpiar el área de trabajo con papel absorbente y enjuagar con agua. Si se derrama una muestra en el área de trabajo, limpiar con lejía y papel absorbente.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. A. O'FEL - Parasitologie mycologie - *Formato Utile*, Saint-Maur.
2. J. BAILINGER - Coprologie parasitaire et fonctionnelle - *Imprimerie Drouillard*, Bordeaux.
3. P. BOURÉE - Aide mémoire de parasitologie - *Flammarion*, Paris.
4. A.-M. DELUOL - Atlas de parasitologie - Guide pratique du diagnostic au microscope - (tomes I, II, III). *Edition Varia*, Paris.
5. J.-P. NOZAIS, A. DATRY, M. DANIS, C. BOUDON - Traité de parasitologie médicale - *Pradel*, Paris.
6. M. GENTILLINI, B. DUFLO - Médecine tropicale de voyage - *Flammarion Médecine Sciences*, Paris.
7. Y.-J. GOLVAN - Eléments de parasitologie médicale - *Flammarion*, Paris.
8. H. LEGER, M.-J. NOTTEGHEM - Guide de parasitologie pratique - *SEDES*, Paris.
9. C. JUNOD - Recherche spéciale des oeufs et larves d'Helminthes dans les selles par la méthode des concentrations combinées - *Feuilles de biologie*, 92 : 55-62 (1976).
10. D. ENGELS, S. NAHIMANA, B. GRYSEELS - Comparison of the direct faecal smear and dos techniques de frotis grueso para el diagnóstico de infecciones parasitarias intestinales - *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 90 : 523-525 (1996).