

ELIstain Paratest

Coloration et concentration des éléments parasitaires dans les selles

100 tests
(Réf. 66702)

8000320-fr-2022-05

1 - BUT

ELIstain Paratest permet d'effectuer :

- l'examen direct des éléments parasitaires dans les selles grâce au réactif R1 (solution Para-Color)
- la méthode de concentration des éléments parasitaires selon Bailenger avec coloration par le réactif R1.

Le coffret permet de réaliser 100 tests.

2 – INTRODUCTION

De nombreux parasites (protozoaire – helminthes) peuvent être à l'origine des manifestations intestinales ou hépatiques. La présence de ces parasites dans l'intestin ou dans les canaux biliaires est confirmée par un examen macroscopique et un examen microscopique des selles. Les manifestations cliniques, l'interrogatoire du patient avec notamment la notion de séjour en zone d'endémie, les résultats des examens biologiques tels que l'hyperéosinophilie sanguine orientent le diagnostic parasitologique et les techniques à mettre en œuvre.

3 – PRINCIPE

Examen direct après coloration par le réactif R1 (solution Para-Color)

Para-Color est un procédé de coloration différentielle des éléments parasitaires utilisant un mélange d'agents colorants dont le Lugol. Son utilisation facilite la détection des éléments parasitaires qui apparaissent colorés en jaune, jaune-orange ou jaune-brun sur fond bleu plus ou moins foncé.

Méthode de concentration d'éléments parasitaires selon Bailenger et coloration par le réactif R1 (solution Para-Color)

Méthode de concentration diphasique utilisant l'éther comme solvant organique et réactif R2 (solution tampon acéto-acétique pH 5) comme phase aqueuse. L'examen du culot est réalisé après coloration par le réactif R1, permettant une détection plus facile des éléments parasitaires qui apparaissent en jaune, jaune-orange ou jaune-brun sur fond bleu plus ou moins foncé.

4 – REACTIFS ET MATERIEL

Description	Quantité
R1 : flacon de 4,5 mL de solution Para-Color.	1
R2 : flacon de 750 mL de solution tampon acéto-acétique pH 5.	3
TUBE - 30 mL : tubes coniques de 30 mL.	100
TUBE - 10 mL : tubes coniques de 10 mL.	100
SPATULA : spatules.	100

5 – PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Les réactifs sont destinés uniquement à un diagnostic *in vitro* et doivent être manipulés par des personnes habilitées.
- Les tests sont à usage unique.
- Les prélèvements sont potentiellement infectieux. Ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.

PARA-COLOR GHS02 – GHS08 – GHS07

H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H319 : Provoque une grave irritation oculaire.



H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.

P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P235 : Tenir au frais.

P260 : Ne pas respirer les vapeurs.

P403 : Stocker dans un endroit bien ventilé

6 – RECUEIL ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

Compte tenu de la fragilité de certains stades parasitaires tels que les formes végétatives de protozoaires, il est recommandé de traiter les selles le plus rapidement possible après leur recueil.

7 – CONSERVATION ET PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont prêts à l'emploi. Les réactifs conservés à 18-25°C, à l'abri de la lumière, sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret. Ils ne doivent pas être congelés.

8 – MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Pipette(s) automatique(s) au volume de pipetage adapté à la quantité à mesurer ;
- Tubes à hémolyse ;
- Eau physiologique ;
- Ether ou acétate d'éthyle ;
- Vortex ;
- Pipettes Pasteur ;
- Centrifugeuse ;
- Lames + lamelles pour microscopie ;
- Microscope ;
- Récipients pour déchets contaminés

9 – MODE OPERATOIRE

Examen direct après coloration par le réactif R1 (solution Para-Color)

- Homogénéiser les selles.
- Prélever un volume de selles équivalent à un petit pois et le déposer dans un tube à hémolyse contenant 1 mL de diluant (eau physiologique, eau distillée ou réactif R2).
- Triturer et agiter pour obtenir une suspension homogène (agitateur de type Vortex).
- A l'aide d'une micropipette, déposer sur une lame 10 µL de réactif R1.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter 1 goutte (ou 25 µL avec une micropipette) de la suspension de selles à examiner.
- Bien mélanger.
- Recouvrir d'une lamelle et observer au microscope avec une lumière blanche (filtre bleu).

Méthode de concentration d'éléments parasitaires selon Bailenger et coloration par le réactif R1 (solution Para-Color)

- Dans un tube conique de 30 mL, verser 20 mL de réactif R2.
- Homogénéiser les selles
- Prélever une noix de selles (3 – 4 g ou 3 – 4 mL si les selles sont liquides) et la déposer dans le réactif R2.
- Triturer à l'aide d'une spatule et agiter vigoureusement jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène (agitateur de type Vortex).
- Laisser reposer 2 à 3 minutes pour la sédimentation des gros débris.
- Verser 5 mL du surnageant dans un tube conique de 10 mL.
- Ajouter 2,5 à 3 mL d'éther.
- Boucher le tube et agiter vigoureusement pour obtenir une émulsion (agitation manuelle ou avec agitateur type Vortex).
- Déboucher le tube et centrifuger à 150-200 g pendant 5 minutes pour « casser » l'émulsion.
- En cas de gélification de la phase supérieure (résidus lipophiles), la décoller de la paroi du tube à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Éliminer le surnageant par retournement du tube.
- Remettre le culot en suspension avec 1 ou 2 gouttes d'eau physiologique (ne pas laisser dessécher le culot).
- A l'aide d'une micropipette, déposer sur une lame de 10 µL de réactif R1.
- A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter 1 goutte (ou 25 µL avec une micropipette) de la suspension à examiner.
- Bien mélanger.
- Recouvrir d'une lamelle et observer au microscope avec une lumière blanche (filtre bleu).



N.B. : POSSIBILITE D'UTILISATION DE L'ACETATE D'ETHYLE COMME SOLVANT ORGANIQUE A LA PLACE DE L'ETHER

L'éther (éther diéthylique - C₂H₅-O-C₂H₅) est le solvant de référence pour la technique de concentration Bailenger. Il peut être remplacé par l'acétate d'éthyle à volume égal. Il faut cependant noter que la solubilisation de certains débris fécaux est plus difficile avec l'acétate d'éthyle qu'avec l'éther diéthylique. Ainsi, avec certaines selles traitées avec l'acétate d'éthyle, la couche interphase peut être plus épaisse et le culot, plus volumineux, peut présenter de nombreux éléments non parasitaires pouvant gêner l'observation microscopique. Il convient alors de reprendre le culot avec une plus grande quantité de diluant, par exemple avec 4 gouttes d'eau physiologique au lieu de 2, et d'effectuer plusieurs montages pour l'examen microscopique.

10 – INTERPRETATION DES RESULTATS

Les éléments parasitaires apparaissent colorés en jaune, jaune-orange ou jaune-brun sur fond bleu plus ou moins foncé.

11 – CAUSES D'ERREURS ET LIMITES DU TEST

Dans tous les cas et avant l'établissement du diagnostic final, l'interprétation du test doit être réalisée en intégrant l'ensemble des données cliniques, épidémiologiques et biologiques et des résultats des autres tests.

12 – PERFORMANCES

Une étude comparative pour la recherche d'éléments parasitaires a été réalisée sur 83 selles en utilisant les techniques classiques (examen direct sans coloration – Bailenger sans coloration) et celles du kit ELIstain Paratest. Pour l'examen direct et l'examen après coloration, sur le plan qualitatif, des résultats identiques ont été obtenus avec les différentes techniques en terme d'identification du parasite et du stade parasitaire. Il a été noté que l'utilisation du réactif R1 (solution Para-Color) permettait une lecture plus facile. Sur le plan quantitatif, pour un grand nombre de selles, le nombre de kystes ou d'œufs qui a été obtenu avec les différentes techniques était identique ou proche. Pour un petit nombre de selles, des différences ont été observées mais elles ont été considérées comme étant non significatives car inférieures à 30% entre les techniques utilisées. L'ensemble des résultats a permis de conclure que les techniques utilisant les réactifs de l'ELIstain Paratest permettaient une détection au moins égale à celle des techniques classiques.

13 – ELIMINATION DES DECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de produit dans le pays d'utilisation. En cas de versement accidentel de réactif, nettoyer le plan de travail à l'aide de papier absorbant et rincer avec de l'eau. En cas de versement d'échantillon, nettoyer à l'aide d'eau de Javel et de papier absorbant.

14 – BIBLIOGRAPHIE

1. A. O'FEL - Parasitologie mycologie - *Format Utile*, Saint-Maur.
2. J. BAILLENGER - 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. NOZAI, A. DATRY, M. DANIS, C. BOUDON – Traité de parasitologie médicale – *Pradel*, Paris.
6. M. GENTILLINI, B. DUGLO – 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 – *Feuillets de biologie*, 92 : 55-62 (1976).
10. D. ENGELS, S.NAHIMANA, B. GRYSEELS – Comparison of the direct faecal smear and two thick smear techniques for the diagnosis of intestinal parasitic infections - *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 90 : 523-525 (1996).

Les modifications par rapport à la version précédente sont surlignées en gris



ELITech MICROBIO
Parc d'activités du Plateau
19 Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
Tel : 04 94 88 55 00
Fax : 04 94 88 55 22
http://www.elitechgroup.com