ELIstain Paratest

Coloration et concentration des éléments parasitaires dans les selles

100 tests
(Réf. 66702)

8000320-FR-2025-09_V3

Pour diagnostic *in vitro* uniquement, pour usage professionnel seulement

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 dansl'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 (1,2).

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 (1,3).

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 (1,3).

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 et formées.
- 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

La totalité de la selle doit être recueillie sans urines (celles-ci tuent les protozoaires) et dans un récipient propre sec et transparent mais pas nécessairement stérile.
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, soit dans les 6h si l'échantillon est conservé à température ambiante ou dans les 2-3 jours s'il est conservé à à 2-8°C, dans leur pot d'origine ou en suspension dans du tampon acéto-acétate.

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 ;
- Ether ou acétate d'éthyle ;
- Pipettes Pasteur ;
- Lames + lamelles pour microscopie ;
- Récipients pour déchets contaminés
- Eau physiologique ;
- Vortex ;
- Centrifugeuse ;
- Microscope ;

9 – MODE OPERATOIRE

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

a. Homogénéiser les selles.
b. Prélever un volume de selles équivalent à un petit pois (300 mg +/- 50 mg quelle que soit la consistance) et le déposer dans un tube à hémolyse contenant 1 mL de diluant (eau physiologique, eau distillée ou réactif **R2**).
c. Triturer et agiter pour obtenir une suspension homogène (agitateur de type Vortex).
d. A l'aide d'une micropipette, déposer sur une lame 10 µL de réactif **R1**.
e. A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter 1 goutte (ou 25 µL avec une micropipette) de la suspension de selles à examiner.
f. Bien mélanger.
g. Recouvrir d'une lamelle et observer au microscope avec une lumière blanche (filtre bleu).

Remarque : La préparation doit être lue extemporanément pour éviter la lyse de certains éléments parasitaires fragiles

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

a. Dans un tube conique de 30 mL, verser 20 mL de réactif **R2**.
b. Homogénéiser les selles
c. Prélever une noix de selles (3 – 4 g ou 3 – 4 mL si les selles sont liquides) et la déposer dans le réactif **R2.**
d. Triturer à l'aide d'une spatule et agiter vigoureusement jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène (agitateur de type Vortex).
e. Laisser reposer 2 à 3 minutes pour la sédimentation des gros débris.
f. Verser 5 mL du surnageant dans un tube conique de 10 mL.
g. Ajouter 2,5 à 3 mL d'éther.
h. Boucher le tube et agiter vigoureusement pour obtenir une émulsion (agitation manuelle ou avec agitateur type Vortex).
i. Déboucher le tube et centrifuger à 150-200 g pendant 5 minutes pour « casser » l'émulsion.
j. En cas de gélification de la phase supérieure (résidus lipophiles), la décoller de la paroi du tube à l'aide d'une pipette Pasteur.
k. Eliminer le surnageant par retournement du tube.
l. Remettre le culot en suspension avec 1 ou 2 gouttes d'eau physiologique (ne pas laisser dessécher le culot).
m. A l'aide d'une micropipette, déposer sur une lame de 10 µL de réactif **R1.**
n. A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter 1 goutte (ou 25 µL avec une micropipette) de la suspension à examiner.
o. Bien mélanger.
p. 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 - C_2H_5-O-C_2H_5) 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

Certains éléments peuvent entraîner des confusions dans le diagnostic coprologique parasitaire. Ces aspects trompeurs peuvent être à l'origine d'examens faussement positifs. La reconnaissance de nombreux résidus de la digestion est fondamentale afin de ne pas les confondre avec des éléments parasitaires (par ex : grain de pollen, spores de champignon, poils de certains fruits, parasites en transit suite à l'ingestion de foie d'animal contaminé....) (4)

Certains traitements non résorbables peuvent interférer avec la récupération et la collecte des parasites (huile de ricin, huile minérale, bismuth, antibiotiques, antipaludéens…)

La recherche des parasites doit être réalisée par du personnel formé et habilité à la coprologie parasitaire.

Un seul examen des éléments parasitaires de selle négatif n'a pas de valeur. Il faut renouveler l'examen en tenant compte de l'existence de période de mutité dans l'expression de certains parasites. En cas de selle négative, il est nécessaire de réaliser 2 prélèvements supplémentaires à 4-5 jours d'intervalles entre chaque recueil.

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 – CONTROLE QUALITE

12.1 - Examen direct

Le contrôle qualité peut être réalisé à partir des contrôles vendus par les sociétés KaliDiv et Eurobio SCIENTIFIC :
-Suspensions de selles avec des kystes de *Giardia duodenalis* (réf CQI KD-Col/PM/Susp-G.dK chez KaliDiv) : Subsphérique (7-10 µm x 8-12 µm), contient deux ou quatre noyaux selon son stade de maturité et des résidus de flagelles et de corps médians. Coloration jaune à jaune orangé sur fond bleu
-Suspension de selles avec des formes végétatives d'*Entamoeba histolytica* (réf CQI KD/Col/PM/Susp-E.h Fv de chez KaliDiv) : Taille de 15 à 40 µm avec un ectoplasme peu coloré et un endoplasme granuleux. Le noyau est gros, 6 à 8 µm. Il présente un chromatine périphérique fine régulière et "perlée" avec un petit caryosome central ou subcentral. Coloration jaune à jaune orangé sur fond bleu
-Suspension de selles avec des œufs de *Trichuris trichiura* (réf 1809-CQI de chez Eurobio SCIENTIFIC) : Œufs en forme de citron avec un opercule clair aux 2 extrémités. Coloration jaune à jaune orangé sur fond bleu

12.2 – Méthode de concentration

Le contrôle de qualité peut être réalisé à partir du contrôle CQI KD-TraceColor/Part vendu par la société KaliDiv. Le contrôle est constitué de particules synthétiques colorées dont la taille (25 – 100 µm) et la nature (hydrophile) miment celles de certains éléments parasitaires.

Le facteur de concentration obtenu lors la réalisation du test doit être supérieur ou égal à 10.

13 – 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 concentration, sur le plan qualitatif, des résultats identiques ont été obtenus avec les différentes techniques en termes 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.

L'évaluation des performances de la méthode ELIstain Paratest a été réalisée par rapport aux méthodes de concentrations traditionnelles (MIF, Bailanger et Ritchie modifiée) (5). Les performances dans la détection des maladies parasitaires intestinales, la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives de chaque méthode ont été calculées et exprimées en pourcentages avec des intervalles de confiance à 95 %. A noter : En l'absence d'une méthode de référence normalisée, les résultats obtenus après la combinaison de plusieurs techniques tant sur l'examen direct que sur l'examen après concentration ont été considérés comme une référence. Les performances obtenues lors de la méthode de concentration des éléments parasitaires par la méthode ELIstain Paratest sont décrites ci-dessous :

Espèces	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
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%]

VPP : Valeur prédictive positive
VPN : Valeur prédictive négative

Aucune différence significative n'a été observée en ce qui concerne la quantité de débris entre les techniques. Cependant, la densité de ces débris dans le culot lors de l'utilisation des techniques traditionnelles de Ritchie et de MIF a empêché une lecture complète par rapport aux techniques du kit ELIstain Paratest. En termes de morphologie, il a été observé que 11,6% des parasites ont été altérés avec la méthode de concentration parasitaire ELIstain Paratest contre 7, 13,7 et 11,9%, respectivement, avec la méthode Bailenger conventionnel, le MIF conventionnel et le Ritchie modifié.

13.1 – Répétabilité (examen direct)

Sur des Contrôles de Qualité Interne d'oeufs de *Trichuris trichiura*, de forme végétative *d'Entamoeba histolytica* et kystes de *Giardia duodenalis*, le réactif Para-Color a une répétabilité de 100 % en termes de détection du parasite sur 10 tests de coloration réalisés.

13.2 – Répétabilité (méthode concentration)

Les tests de répétabilité du dispositif ELIstain Paratest ont été réalisés à l'aide d'un contrôle de qualité interne de type solution contenant une concentration connue de traceur particulaire. Le dispositif a une répétabilité de 100 % sur 10 tests de concentration, avec des coefficients de concentration supérieurs à 10.

13.3 – Reproductibilité (examen direct)

Sur des Contrôles de Qualité Interne d'oeufs de *Trichuris trichiura*, de forme végétative *d'Entamoeba histolytica* et kystes de *Giardia duodenalis*, le réactif Para-Color a une reproductibilité de 100 % en termes de détection du parasite sur 10 tests de coloration réalisés.

13.4 – Reproductibilité (méthode concentration)

Les tests de reproductibilité du dispositif ELIstain Paratest ont été réalisés à l'aide d'un contrôle de qualité interne de type solution contenant une concentration connue de traceur particulaire. Le dispositif a une reproductibilité de 100 % sur 20 tests de concentration, avec des coefficients de concentration supérieurs à 10.

14 – 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.

15 – BIBLIOGRAPHIE

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

Tout incident grave en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'Autorité Compétente de l'Etat Membre dans lequel l'utilisateur est établi.

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

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