

ELIstain Paratest

Verkleuring en concentratie van de parasitaire elementen in de ontlasting

100 testen
(Ref. 66702)

8000320-NL-2022-05

Alleen voor diagnostisch gebruik *in vitro*, alleen voor professioneel gebruik. Tests voor eenmalig gebruik.



1 - DOEL

ELIstain Paratest maakt de uitvoering van het volgende mogelijk:

- rechtstreeks onderzoek van parasitaire elementen in de ontlasting dankzij het reagens R1 (Para-Color-oplossing).
- de methode van concentratie van parasitaire elementen volgens Bailenger met verkleuring door het reagens R1.

Met de inhoud van deze kit kunnen 100 tests worden uitgevoerd.

2 - INLEIDING

Talrijke parasieten (protozoën - ingewandwormen) kunnen de oorzaak zijn van darm- of leveraandoeningen. De aanwezigheid van deze parasieten in de darmen of galwegen wordt bevestigd door macroscopisch en microscopisch onderzoek van de ontlasting. De klinische verschijnselen, een gesprek met de patiënt met vooral het begrip van verblijf in het endemische gebied, de resultaten van biologische onderzoeken zoals bloedhypereosinofilie, oriënteren de parasitologische diagnose en de toe te passen technieken.

3 - PRINCIPE

Direct onderzoek na kleuring met reagens R1 (Para-Color-oplossing)

Para-Color is een proces van differentiële kleuring van parasitaire elementen met behulp van een mengsel van kleurstoffen waaronder Lugol. Het gebruik ervan vergemakkelijkt de detectie van parasitaire elementen die op een iets donkere of lichtere blauwe achtergrond als geel, geeloranje of geelbruin verschijnen.

Methode van concentratie van parasitaire elementen volgens Bailenger en verkleuring door het reagens R1 (Para-Color-oplossing)

Tweefasige concentratiemethode waarbij ether als organisch oplosmiddel en het reagens R2 (azijnzuur-bufferoplossing pH 5) als waterige fase wordt gebruikt. Het onderzoek van de korrel wordt uitgevoerd na verkleuring door het reagens R1, zodat de parasitaire elementen die op een min of meer donkerblauwe achtergrond in geel, geeloranje of geelbruin voorkomen, gemakkelijker kunnen worden opgespoord.

4 - REAGENTIA EN MATERIAAL

Beschrijving	Aantal
R1 : flacon van 4,5 mL van Para-Color-oplossing	1
R2 : flacon van 750 mL van azijnzuur-buffer-oplossing pH 5	3
TUBE - 30 mL: conische buizen van 30 mL	100
TUBE - 10 mL: conische buizen van 10 mL	100
SPATULA: spatels	100

5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

- Reagentia zijn alleen bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel te worden gehanteerd.
- De testen zijn voor eenmalig gebruik.
- De monsternemingen zijn potentieel besmettelijk. Ze moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen en met inachtneming van de in het land van gebruik geldende hygiënevoorschriften.
- Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum.

PARA-COLOR GHS02 – GHS08 – GHS07



H225 : Licht ontvlambare vloeistof en damp.

H315 : Veroorzaakt huidirritatie.

H319 : Veroorzaakt ernstige oogirritatie.



H373 : Kan schade aan organen veroorzaken bij langdurige of herhaalde blootstelling.

P210 : Verwijderd houden van warmte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Niet roken.

P235 : Koel bewaren.

P260 : Damp niet inademen.

P403 : Op een goed geventileerde plaats bewaren.

6 - VERZAMELING EN VERWERKING VAN MONSTERS

Gezien de kwetsbaarheid van bepaalde parasitaire stadia, zoals de vegetatieve vormen van protozoën, wordt het aangeraden om de ontlasting zo snel mogelijk na de verzameling ervan te behandelen.

7 - OPSLAG EN BEREIDING VAN DE REAGENTIA

De reagentia zijn klaar voor gebruik. Reagentia die worden bewaard bij 18-25 °C, in een donkere ruimte, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum. Zij mogen niet worden bevroren.

8 - BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

- Automatische pipet(ten) met een aan de te meten hoeveelheid aangepast pipetteringsvolume;
- Hemolysebuisjes;
- Ether of ethylacetaat;
- Pasteurpipetten;
- Objectglaasjes + lamellen voor microscopie;
- Containers voor verontreinigd afvalmateriaal.
- Fysiologisch water;
- Vortex;
- Een centrifuge;
- Microscop;

9 - WERKWIJZE

Direct onderzoek na kleuring met reagens R1 (Para-Color-oplossing)

- Homogeniseer de ontlasting.
- Neem een volume van de ontlasting gelijk aan een kleine erwt en plaats het in een hemolysebuisje met 1 mL verdunningsmiddel (fysiologisch water, gedestilleerd water of reagens R2).
- Verbrijzelen en schudden tot u een homogene suspensie krijgt (vortexmixer).
- Plaats met behulp van een micropipet 10 µL reagens R1 op een objectglaasje.
- Voeg met behulp van een pasteurpipet 1 druppel (of 25 µL met een micropipet) van de te onderzoeken ontlasting toe.
- Meng goed.
- Dek af met een lamel en observeer onder de microscoop met een wit licht (blauwe filter).

Methode van concentratie van parasitaire elementen volgens Bailenger en verkleuring door het reagens R1 (Para-Color-oplossing)

- Giet in een conische buis van 30 mL 20 mL reagens R2.
- Homogeniseer de ontlasting.
- Neem één stukje ontlasting (3 - 4 g of 3 - 4 mL als de ontlasting vloeibaar is) en plaats dat in reagens R2.
- Verbrijzel met behulp van een spatel en schud krachtig totdat u een homogene suspensie krijgt (roerder van het type Vortex).
- Laat 2 tot 3 minuten staan om grote stukken te laten bezinken.
- Giet 5 mL van het supernatant in een conische buis van 10 mL.
- Voeg 2,5 tot 3 mL ether toe.
- Sluit de buis af en schud krachtig om een emulsie te verkrijgen (met de hand schudden of met een roerder van het type Vortex).
- Haal de dop van de buis en centrifugeer bij 150-200 g gedurende 5 minuten om de emulsie te "breken".
- Bij gelificatie van de bovenste fase (lipofiele resten) verwijdert u het van de buiswand met een pasteurpipet.
- Verwijder het supernatant door de buis om te draaien.
- Breng de korrel terug tot een suspensie met 1 of 2 druppels fysiologisch water (laat de korrel niet uitdrogen).
- Plaats met behulp van een micropipet 10 µL reagens R1 op een objectglaasje.
- Voeg met behulp van een pasteurpipet 1 druppel (of 25 µL met een micropipet) van de te onderzoeken suspensie toe.
- Meng goed.
- Dek af met een lamel en observeer onder de microscoop met een wit licht (blauwe filter).

N.B.: DE MOGELIJKHEID BESTAAT OM ETHYLACETAAT TE GEBRUIKEN ALS ORGANISCH OPLOSSELINGSMIDDEL IN PLAATS VAN ETHER

Ether (di-ethylether - C₂H₅-O-C₂H₅) is het referentieoplosmiddel voor de concentratietechniek van Bailenger. Het kan worden vervangen door ethylacetaat bij gelijk volume.

Er dient echter opgemerkt te worden dat het oplossen van bepaalde fecale deeltjes moeilijker is met ethylacetaat dan met diethylether. Daarom kan bij bepaalde met ethylacetaat behandelde ontlasting de interfase laag dikker zijn en kan de volumineuzere korrel talrijke niet-parasitaire elementen bevatten die de microscopische waarneming kunnen verstoren. Het kan dan handig zijn om de korrel met een grotere hoeveelheid verdunningsmiddel te verdunnen, bijvoorbeeld met 4 druppels fysiologisch water in plaats van 2, en verschillende montages uit te voeren voor het microscopische onderzoek.

10 - INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

De parasitaire elementen verschijnen op een iets donkere of lichtere blauwe achtergrond als geel, geeloranje of geelbruin.

11 - OORZAKEN VAN FOUTEN EN BEPERKINGEN VAN DE TEST

In alle gevallen, en voordat de definitieve diagnose wordt gesteld, moet de interpretatie van de test worden gerealiseerd met de integratie van alle klinische, epidemiologische en biologische gegevens en de resultaten van andere tests.

12 - PRESTATIES

Een vergelijkende studie voor de detectie van parasitaire elementen werd uitgevoerd op 83 uitwerpselen met behulp van de klassieke technieken (direct onderzoek zonder kleuring - Bailenger zonder kleuring) en met de technieken van de kit ELIstain Paratest. Voor direct onderzoek en onderzoek na concentratie werden met de verschillende technieken op kwalitatief vlak identieke resultaten verkregen wat betreft de identificatie van parasieten en parasitaire stadia. Er werd opgemerkt dat het gebruik van het reagens R1 (Para-Color-oplossing) een gemakkelijker aflezing mogelijk maakte.

Op kwantitatief vlak was, voor een groot aantal uitwerpselen, het aantal cysten of eieren die werden verkregen met de verschillende technieken hetzelfde of bijna hetzelfde. Voor een klein aantal uitwerpselen werden er verschillen waargenomen die echter als onbeduidend werden beschouwd omdat ze minder dan 30% van de gebruikte technieken uitmaakten. De algemene resultaten leidden tot de conclusie dat technieken met de reagentie van ELIstain Paratest een detectie mogelijk maakten die ten minste gelijk was aan die van de conventionele technieken.

13 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type product geldende hygiënevoorschriften en wetgeving. In geval van accidenteel morsen van reagens: het werkoppervlak reinigen met absorberend papier en spoelen met water. In geval van accidenteel morsen van het monster: reinigen met bleekmiddel en absorberend papier.

14 - BIBLIOGRAFIE

- A. O'FEL - Parasitologie mycologie - *Format Utile*, Saint-Maur.
- J. BAILLENGER - Coprologie parasitaire et fonctionnelle - *Imprimerie Drouillard*, Bordeaux.
- P. BOURÉE - Aide mémoire de parasitologie - *Flammarion*, Paris.
- A.-M. DELUOL - Atlas de parasitologie - Guide pratique du diagnostic au microscope - (tomes I, II, III), *Edition Varia*, Paris.
- J.-P. NOZAIS, A. DATRY, M. DANIS, C. BOUDON - Traité de parasitologie médicale - *Pradel*, Paris.
- M. GENTILLINI, B. DUFLO - Médecine tropicale de voyage - *Flammarion Médecine Sciences*, Paris.
- Y.-J. GOLVAN - Eléments de parasitologie médicale - *Flammarion*, Paris.
- H. LEGER, M.-J. NOTTEGHEM - Guide de parasitologie pratique - *SEDES*, Paris.
- 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).
- 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).

De wijzigingen ten opzichte van de vorige versie zijn grijs gemarkeerd.