# Anreicherungssystem für die Parasitologie

Das Biorepair.com Anreicherungssystem wird mit folgenden Konservierungslösungen angeboten:

- **SAF-Lösung:**
  **Vorsicht Reizend!** *Formaldehyd 1,5 %; Essigsäure 2 %; Na Acetat 15 g/l*
  Die einzusetzende SAF-Lösung enthält Formaldehyd und Essigsäure. Die verdünnte Formaldehyd-Lösung ist reizend. Formaldehyd steht im Verdacht krebserregend zu sein. Bei Hautkontakt sofort mit viel Wasser abspülen!

- **MIF-Lösung:**
  *Formaldehyd 2,3%, Glycerin 1 %*
  Das einzusetzende Medium A enthält Formaldehyd. Die verdünnte Formaldehyd-Lösung ist reizend. Formaldehyd steht im Verdacht krebserregend zu sein. Bei Hautkontakt sofort mit viel Wasser abspülen!

- **Bailenger-Lösung:**
  **Vorsicht Reizend!** *Natriumazid 0,05 %; Essigsäure 0,4 %; Na Acetat 15 g/l*
  Die einzusetzende Bailenger-Lösung enthält Natriumazid und Essigsäure. Die verdünnte Lösung ist reizend. Bei Hautkontakt sofort mit viel Wasser abspülen!

## Arbeitsanleitung

**Verwendungszweck des Anreicherungssystems**
Optimiertes Anreicherungssystem zur Untersuchung von Stuhlproben in der Parasitologie

**Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen:**
Vor der Verwendung des Anreicherungssystems sollte diese Anleitung sorgfältig vollständig durchgelesen werden. Das Anreicherungssystem dient der mechanischen Anreicherung von Parasiten aus Stuhlproben. Stuhlproben sind immer wie potentiell infektiöses Material zu handhaben (Schutzkleidung, Handschuhe).

**Lagerung und Haltbarkeit**
Gefüllte und ungefüllte Röhrchen sind bei Raumtemperatur bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Das Produkt sollte nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

**Bestandteile des Anreicherungssystems:**

1. gefüllte Probenröhrchen mit Medium A.
2. Verschlusskappe mit Probenlöffel.
3. Filterröhrchen zum Zentrifugieren mit Filtereinsatz


Biorepair.com Labordiagnostika GmbH
Email: info@biorepair.com

**Probengewinnung**
Als Proben dienen frische unbehandelte Stuhlproben. Stuhlproben werden in einem handelsüblichen Transportröhrchen im Labor angeliefert und von diesem Probenröhrchen für die Parasitenanreicherung entnommen.

**Probenvorbereitung**

Für optimale Ergebnisse wird eine gestrichen volle Spatelspitze mit Stuhl in ein Probenröhrchen, mit ~3,0 ml Medium A überführt. Siehe Ablaufschema Abb. 1.

**Testdurchführung**

Durchführung der Anreicherung von Parasiten aus Stuhlproben
(parallele Ansätze pro untersuchte Probe erhöhen die Genauigkeit der Ergebnisse)

- das geschlossene Proberöhrchen wird kurz geschüttelt (Schüttelgerät-Vortex oder von Hand),
  um die Probe vom Spatel zu lösen und im Medium A zu verteilen
- vor Zugabe des Lösungsmittels werden Schraubkappe und Spatel vom Proberöhrchen entfernt
- Zugabe Medium B (~1,0 ml Ethylacetat) zum Proberöhrchen, Ablaufschema **Abb.3**
  (eventuell zusätzlich 0,2 ml Färbemedium C-Lugol, s.u)
- Filterröhrchen auf das Proberöhrchen aufschrauben und die gekoppelten Röhrchen um 180° drehen
- gründliches Mischen der Probe (10 sec Schüttelgerät-Vortex oder 20 sec von Hand), Ablaufschema **Abb.4**
  (die Probe sollte anschließend fein verteilt in der Lösung vorliegen)
- aktives Filtern per Hand (Schüttelbewegung ähnlich wie bei einem Fieberthermometer), Ablaufschema **Abb.5**
- 1 - 2 min Ruhe (mehrere Stunden Ruhe, z.B. über Nacht, führen wie das Zentrifugieren zur Phasentrennung)
- nach der Ruhepause wird die Probe 5 - 10 min bei 1500 - 2000 U/min. zentrifugiert, Ablaufschema **Abb.6**
- nach Entfernen des Proberöhrchens wird der Überstand (3-4 Phasen) verworfen, im Sediment befinden sich die angereicherten Parasiten (Protozoen, Wurmeier, Larvenstadien), Ablaufschema **Abb.7**
- mögliche Anfärbung des Sediments im Filterröhrchen, mit wenigen Tropfen Medium C, zur besseren Identifizierung der Probe (die Zugabe von Färbemedium C kann auch direkt auf dem Objektträger erfolgen)
- ein Teil der Sedimentprobe wird auf einen Objektträger überführt, Ablaufschema Abb.7, mehrmaliges Mikroskopieren vergrößert die Genauigkeit der Untersuchung, mindestens zwei Ansätze !(Zugabe von etwas Medium A kann das Pipettieren erleichtern),
- empfohlene Vergrößerung: x100 zum Durchmustern und für größere Objekte, z.B. Wurmeier
  x400-1000 bei Protozoen
  (Pilze, vor allem Hefen, sind ein Indikator für eine zufriedenstellende Anreicherung der Probe)

**Qualitätskontrolle**
Jedes Labor sollte eine eigene Qualitätskontrolle festlegen. Der Einsatz des Anreicherungssystems bei Ringversuchen wird empfohlen.


Biorepair.com Labordiagnostika GmbH
Email: info@biorepair.com

**Angaben zur Gerätekombination:**
Für die Zentrifugation müssen passende Zentrifugeneinsätze vorhanden sein. Für die Anreicherung eignen sich Festwinkelrotoren und ausschwingende Rotoren. Bei ausschwingenden Rotoren sollte die Freigängigkeit gewährleistet sein.

**Angaben zur sicheren Entsorgung:**
Bei der Entsorgung des Anreicherungssystems sollten die laboreigenen Richtlinien zur Entsorgung von Sondermüll beachtet werden.

**Verfahren zur Dekontamination**
Bei unbeabsichtigtem Austreten von Reagenzien sollte die Flüssigkeit aufgewischt und mit viel Wasser nachgespült werden.

***Allgemeine Hinweise***

- Dieses Diagnostikum und alle darin enthaltenen Komponenten dürfen nur für wissenschaftliche Zwecke oder wenn vermerkt zur „in vitro Diagnostik“ verwendet werden.
- Die Berührung mit der Haut sollte vermieden werden!
- Es sollte unter keinen Umständen mit dem Mund pipettiert werden.
- Während der Testdurchführung sollten Schutzkleidung, Schutzbrille und Einmalhandschuhe getragen werden.
- Im Laborbereich beim Verwenden der Proben und der Testkomponenten nicht essen, trinken oder rauchen.
- Sämtliche Proben sollten als potentiell infektiöses Material gehandhabt werden.
- Reagenzien aus unterschiedlichen Kitchargen sollten nicht verwendet werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Labors erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen, und Pipettiervolumina wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Der Hersteller übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller zu übersenden.
- Der Testkit ist nach Ablauf des auf die Packung aufgedruckten Verfallsdatum nicht mehr zu verwenden.

**Literatur:**

Allan L. Truant,* Stephen H. Elliott, Michael T. Kelly, and Jerome H Smith. 1981. Comparison of Formalin-Ethyl Ether Sedimentation, Formalin-Ethyl Acetate Sedimentation, and Zinc Sulfate Flotation Techniques for Detection of Intestinal Parasites. J. Clin. Microbiol. Vol. 13, No. 5: 882-884

Janitschke, K. et al. 1986. Empfehlungen zur Laboratoriumsdiagnostik der Amöbiasis, Giardiasis, Kryptosporidiose und weiterer Kokzidiosen (herausgegeben von der Kommission des Bundesgesundheitsamtes "Laboratoriumsdiagnostik Intestinaler und Pulmonaler Parasitosen"). Lab. med. 10: 118-123

Mehlhorn, H., Düwel, D., Raether, W. 1986. Diagnose und Therapie der Parasiten von Haus-, Nutz- und Heimtieren. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1.1 Methoden

Melvin, D.and M. M. Brooke. 1974. Laboratory procedures for the diagnosis of intestinal parasites. U.S. Department of Health, Education and Welfare, publication no. (CDC) 75-8282. Center for Disease Control, Atlanta, GA.


Biorepair.com Labordiagnostika GmbH
Email: info@biorepair.com

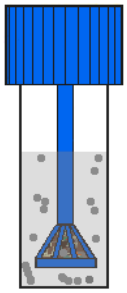
## Zusammenfassung Ablaufschema

**S**icher
* lange Haltbarkeit ab Probennahme ohne weitere Kühlung
* fixierte, nicht infektiöse Probe
* Verwendung geringer Mengen organischer Lösungsmittel

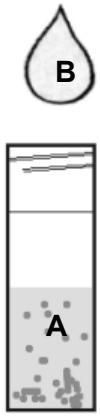
**S**auber
* unproblematische Handhabung
* geschlossenes System, Proberöhrchen dient als Deckel
* keine Geruchsbelästigung nach Beschickung des Proberöhrchens

**S**chnell
* aktiver Filtervorgang mit definierter Porengröße
* Standardisiert, dadurch Qualitätskontrolle möglich
* optimale Anreicherung der Parasiten im Sediment

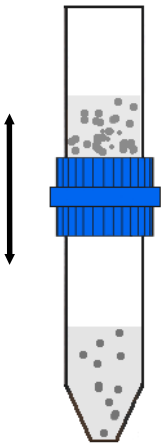
Probennahme



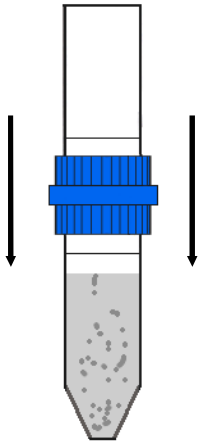
Beschickung



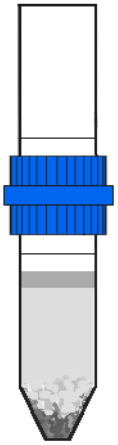

Zugabe Medium B



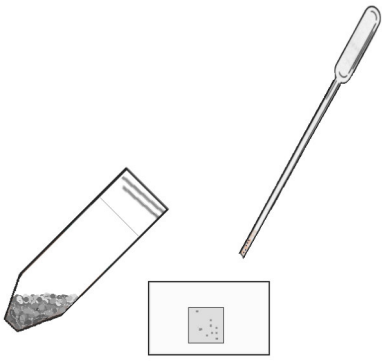
Mischen



Filtration



Phasentrennung



**Medium A:** -
**! Vorsicht reizend !** Dämpfe nicht einatmen, kontaminierte Stellen mit Wasser abwaschen

**Medium B:**- Ethylacetat (Vorsicht brennbar**,** offene Flammen fernhalten**!)**

<Mikroskopieren



Biorepair.com Labordiagnostika GmbH
Email: info@biorepair.com