

## Packungsbeilage Bailenger-Methode (modifiziert)

### Anreicherungs-system für die Parasitologie

Zur „in vitro“ Diagnostik

Arbeitsanleitung



#### Name und Verwendungszweck des Anreicherungs-systems

Optimiertes Anreicherungs-system zur Untersuchung von Stuhlproben in der Parasitologie

Das beschriebene System beruht auf der bewährten MIF-Methode (*Sedimentationsprinzip*).

#### Sicherheitshinweise:

Die einzusetzende Bailenger-Lösung **enthält Natriumazid und Essigsäure**. Die verdünnte Lösung ist reizend. Bei Hautkontakt sofort mit viel Wasser abspülen !.

#### Lagerung und Haltbarkeit

Gefüllte und ungefüllte Röhrchen sind bei Raumtemperatur bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.



#### Bestandteile des Anreicherungs-systems:

1. gefüllte Probenröhrchen mit Bailenger-Lösung (**Vorsicht Reizend!** Enthält: Natriumazid 0,05 %; Essigsäure 0,4 %; Na Acetat 15 g/l ). Verschlusskappe mit Probenlöffel.
2. Filterröhrchen zur Zentrifugation mit Filtereinsatz

## 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 Bailenger-Lösung 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 in der Bailenger-Lösung zu verteilen.
- Proberöhrchen öffnen und ~1,0 ml Lösung B (Ethylacetat) zufügen. Anschließend Röhrchen wieder verschließen und Proberöhrchen kräftig schütteln (Schüttelgerät - Vortex oder von Hand).
- Deckel des Proberöhrchens entfernen, ein Filterröhrchen auf das Proberöhrchen aufschrauben und die gekoppelten Röhrchen um 180° drehen.
- die Probe 5 - 10 min bei 1500 - 2000 U/min. zentrifugiert,
- Filter zusammen mit dem Probenröhrchen abschrauben und verwerfen.
- Überstand verwerfen.
- das Sediment direkt, oder zum Sediment ein bis zwei Tropfen Lugol hinzufügen, anschließend das Sediment auf einen Objektträger geben und mikroskopieren.
- mehrmaliges Mikroskopieren erhöht die Genauigkeit der Untersuchung, mindestens zwei Ansätze! (Zugabe von etwas physiologischer Kochsalzlösung kann das Pipettieren erleichtern),
- empfohlene Vergrößerung: x100 zum Durchmustern und für größere Objekte, z.B. Wurmeier
- x 400-1000 bei Protozoen  
(Pilze, vor allem Hefen, sind ein Indikator für eine zufriedenstellende Anreicherung der Probe)

## Literatur:

Hp.Marti, E. Escher, 1990. SAF – eine alternative Fixierlösung für parasitologische Stuhluntersuchungen. Schweiz. med. Wschr. Vol. 120, 1473.1476.

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.

### **Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen:**

Das Anreicherungs-system dient der mechanischen Anreicherung von Parasiten aus Stuhlproben.

Stuhlproben sind immer wie potentiell infektiöses Material zu handhaben (Schutzkleidung, Handschuhe).

### **Qualitätskontrolle**

Jedes Labor sollte eine eigene Qualitätskontrolle festlegen. Der Einsatz des Anreicherungs-systems bei Ringversuchen wird empfohlen.

### **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 Anreicherungs-systems 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 mitgelieferte Bailenger-Stammlösung enthält Natriumazid und Essigsäure. Bitte entsprechende Sicherheitsmaßnahmen ergreifen. Die Berührung mit der Haut sollte vermieden werden!
- Es sollte unter keinen Umständen mit dem Mund pipettiert werden.
- Während der Testdurchführung sollten Einmalhandschuhe getragen 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.

## Zusammenfassung Ablaufschema

### Sicher

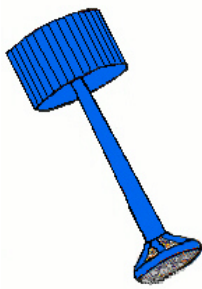
- \* lange Haltbarkeit ab Probenahme ohne weitere Kühlung
- \* fixierte, nicht infektiöse Probe
- \* Verwendung geringer Mengen organischer Lösungsmittel

### Sauber

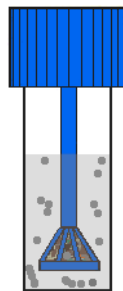
- \* unproblematische Handhabung
- \* geschlossenes System, Proberöhrchen dient als Deckel
- \* keine Geruchsbelästigung nach Beschickung des Proberöhrchens

### Schnell

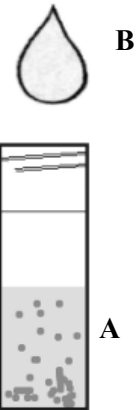
- \* aktiver Filtrervorgang mit definierter Porengröße
- \* Standardisiert, dadurch Qualitätskontrolle möglich
- \* optimale Anreicherung der Parasiten im Sediment



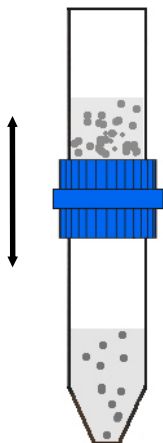
Probennahme



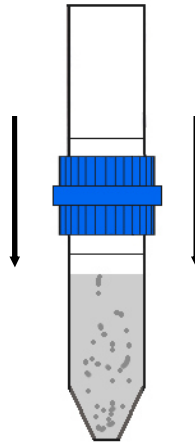
Beschickung



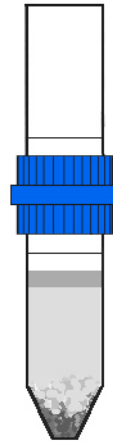
Zugabe Medium B



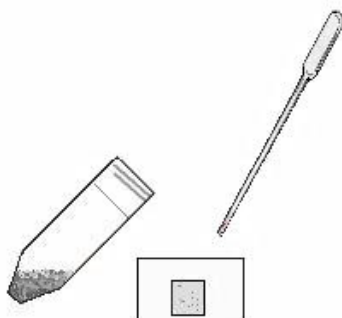
Mischen



Filtration



Phasentrennung



### Bailenger: Vorsicht reizend !

Dämpfe nicht einatmen, kontaminierte Stellen mit Wasser abwaschen

### Medium B:- Ethylacetat

(Vorsicht brennbar, offene Flammen fernhalten!)

<Mikroskopieren (siehe links)