

# A Biosepar-ParasiTrap<sup>®</sup> székletvizsgáló módszer parazitológiai vizsgálatok számára

A Biosepar-ParasiTrap<sup>®</sup> székletvizsgáló szisztémát egy müncheni parazitológiai kutatócsoport fejlesztette ki a Münchener Orvostudományi Egyetem Orvosmikrobiológiai és Higiéniai Tanszékén, a világhírű Max- von Pettenkofer Kutatóintézetben.

A Biosepar szisztéma teljes mértékben kielégíti az európai és amerikai egészségügyi hatóságok, az orvosi, mikrobiológiai és járványegészségügyi laboratóriumok, epidemiológusok, valamint a vezető parazitológiai kutatók ajánlásait, előírásait és elvárásait.

A módszerrel kimutathatók féregpeték, lárvák és protozoonok (ciszták és vegetatív formák) a székletből, de ez lehetséges más testfolyadékból is (pl. nyombélváladékból és vizeletből is).

A kimutatás mellett egyben tartósítja is a próbaanyagot, így ennek további feldolgozása a bakteriális szaporodás és bomlási folyamatok veszélye nélkül elvégezhető.

Emellett az anyag fertőzésveszélytől mentes és a diagnosztika számára a parazitológiai kórokozók (féregpeték, lárvák, protozoonok) morfológiája eredeti formájában megmarad.

A Biosepar szisztéma által végzett vizsgálatokat könnyen és gyorsan lehet kivitelezni és jóval a vizsgálat befejezése után is minőségi kontrolnak alávetni. Felhasználható humán és állatorvosi területen egyaránt.

A Biosepar szisztéma kifejlesztésénél különös hangsúlyt fektettek arra, hogy a vizsgálatokat racionálisan, effektíven és olcsón lehessen elvégezni. Emellett a standardizálhatóság és reprodukálhatóság volt a fő cél, továbbá, hogy minden labor- és segédeszközzel kompatibilisen használható legyen.

A vizsgálatokat akkor is el lehet végezni, ha az adott intézménynek nincs meg a laboratóriumi felszerelése, vagy az áramszolgáltatás szünetel. Ebben az esetben csak az előírt vizsgálati idő hosszabbodik meg.

Éppen ezért ennek az eljárásnak nagy jelentősége van, úgy a Harmadik Világ országaiban, mint minden humán- és állatorvosi intézménynél, valamint a tudományos epidemiológiai kutatásoknál.

A Biosepar szisztéma az M. I. F. C. eljárásra épül fel, de az eszközök a régi flotációs módszerre is felhasználhatók (Ennek az előírását kérésre megküldjük). Nemzetközi világszabadalommal védett.

## **Előnyök**

- optimális higiéniai feltételek, fertőzés és kontamináció védelem minden munkafázisban. Szállítása veszélytelen. Csíramentességet garantál, rögtön a próbavétel után (t.k. a HIV, Hepatitis, Salmonella sp. Shigella sp. és az amőbák ellen),
- kiváló diagnosztikai próbaanyagot biztosít hűtés vagy melegítés nélkül, ezáltal a vizsgálati eredmény optimális,
- a minőségi ellenőrzés független az eltelt időtől,
- racionális munkavégzés által költségcsökkentő,
- pácienseknek, ápolóknak, laboránsoknak könnyen kezelhető,
- környezetkímélő, mivel a szerves oldószerek is a zárt rendszerben maradnak, ezáltal az egészségre nem káros,
- a kellemetlen székletszag a múlté, a vizsgálati anyag gyakorlatilag szagtalan,
- a Biosepar metódus időtől független, azáltal, hogy a próbaanyag hosszú időre tartósított és a vizsgálatra bármikor, később is felhasználható,
- a szállítási költségek alacsonyak, két transzportfiola (I-es munkacsövecske) belefér egy postai műanyag szállítóbetétbe, amit egyébként vérmintaszállításra használnak,
- a Biosepar rendszer megfelel az Európán belüli új postai szállítási előírásoknak.

## **A következő részekből áll a Biosepar-ParasiTrap® szisztéma:**

- Transzportfiola / I-es munkacsövecske), ami a transzport- ill. konzerváló folyadékkal van megtöltve,
- A próbaanyag betöltéséhez, mint segédeszköz szolgál a papírkanál / fakanál, valamint,
- Az egyszer használatos műanyag Pasteur-pipetta,
- A hegyes fiolát (II- es munkacsövecske) a próbaanyag feldolgozására ill. dúsítására használjuk. Erre rácsavarva egy összekötő elem található, amiben egy integrált szűrő van,
- Az ezen lévő fehér porsapka megvédi a próbaanyagot a kívülről jövő szennyeződésektől. Ezt csak közvetlenül a vizsgálat előtt távolítjuk el,
- Vattapálcika

## Anyagvétele

Az anyagminta vétele a lyukacsos konkáv belsejű betét segítségével történik. Mint segédeszközt tudjuk alkalmazni a papírkanalat, vagy folyékony széklet esetén pedig a pasteur- pipettát. A mintát felvevő betétet csak a perem magasságáig szabad betölteni.

## A próbaanyag bevitele a transzportcsövecskébe

A lyukacsos betétet megtöltjük széklettel. Nyomban utána, a megtöltött betétet óvatosan a konzerválófolyadékkal ( Medium "A") megtöltött transzportfiolába kell bejuttatni, majd a kupakot jól zájuk le.

**FIGYELEM:** A transzport, ill. konzerválófolyadékot nem szabad belélegezni. (Ez nem vonatkozik az új, formalintól mentes **Medium A FixSepar<sup>®</sup> ECO** folyadékra). Szennyeződés esetén az érintett felületet vízzel kell lemosni. Ha ez már mintaanyagot tartalmaz, hígított alkoholt, vagy dezinfekciós oldatot is használjunk a biztonság kedvéért. A Medium "A" az élő szervezetben, nagyobb mennyiségben (20-30 ml- től) káros hatást fejthet ki.

## A próbaanyag szállítása és tárolása

A jól lezárt I-es munkacsövecskét 2-3- szor intenzíven megrázzuk. A próbaminta így kész a további feldolgozásra, szállításra, vagy tárolásra. Az előírásnak megfelelően megtöltött munkacsövecskében rövid időn belül a csírák ( vírusok, baktériumok, gombák, paraziták ) elpusztulnak. Egy esetleges törésnél, kifolyásnál nem fenyeget a fertőzés veszélye.

**FONTOS:** Melegítés vagy hűtés nem szükséges. Kerülni kell az erős fényhatást ( napsugárzás). Ne tartsa a szállítócsövecskéket fűtőtestek, vagy hőt leadó készülékek közelében. Szabályos tárolásnál a székletpróba eltarthatósága a jól lezárt munkacsövecskékben minimum 8 hét.

## A próbaanyag optimális mennyisége

A széklatszuszpenzió mennyisége ne haladja meg a 4 ml-t. Az előírásnak megfelelően megtöltött munkacsövecskék esetén mindig van elegendő mennyiségű anyag a szükséges vizsgálatok elvégzésére.

**FONTOS: Kerülje el a munkacsövecske túltöltését minden esetben!**

Ez megkönnyíti az Ön laboratóriumi munkáját és biztosítja a magas szintű parazitológiai diagnosztika eredményességét.

## **A laboratóriumi munkafázisok**

A lapos munkafiola (I- es munkacsövecske) kupakját kinyitjuk. Ha szükséges, a széklatszuszpenziót a konkáv lyukacsos betéttel még egyszer jól összekeverjük. Ez úgy történik, hogy kb. 10- 15 mm- re megemeljük a kupakot és a csövecskébe gyorsan visszatoljuk. Ezt 15- 20- szor megismételjük, de úgy, hogy a belső betétet semmi szín alatt ne emeljük ki a szuszpenzióból, vagy afölé.

**FONTOS: Ha ezt a szabályt betartjuk, a kifröccsenés veszélye nem fenyeget.**

Egy kis idő után rutinosan megszokjuk ezt a keverési módszert. A véletlenül kifröccsent szuszpenzió nem fertőző. A szennyezett felületet ennek ellenére biztonsági okokból higított alkohollal, vagy egy másfajta dezinfekciós oldattal tisztítjuk meg.

## **A kupak eltávolítása**

Az I- es munkacsövecske kupakját az üres lyukacsos betéttel együtt eltávolítjuk, ha a szuszpenzió a megfelelő, jól átkevert állapotban van.

**Az I -es munkacsövecske megtöltése a Medium "B" folyadékkal**  
(fázisok széjjelválasztása)

1,25 ml Medium "B" folyadékot óvatosan ( nem gyorsan) a széklatszuszpenzióhoz hozzáadva a munkacsövecskébe töltünk.

### **FIGYELEM**

**A Medium "B" tűzveszélyes. Nyílt láng közelében használata tilos, ne lélegezzük be! Hűvös helyen tárolandó.**

**Az I- es munkacsövecske megtöltése Medium "C" oldattal**  
(a paraziták szinezés általi differenciálását segíti elő)

0,2 ml Mediun "C" oldat hozzáadása a Medium "B" után, szintén óvatosan történjen.

### **FIGYELEM**

**A Medium "C" bőrre, nyálkahártyára és a szaruhártyára maró hatással van, továbbá veszélyes lehet egy jódra allergiás személynél!**

**Az esetleges kontaminált felületet azonnal bő vízzel tisztítsuk meg.**

## **Az I- es és a II- es munkacsövecskék összekapcsolása**

A megtöltött I- es és II- es munkacsövecskéket a filterrész segítségével összezsavarozzuk (ez megbízhatóan történjen, mert különben fennáll a kifolyás veszélye).

## **Az aktív szűrés és a keverés**

Az egész szisztémát ( a két összekapcsolt csövecskét) 180 fokkal megfordítjuk, a rázó/keverőgéppel maximális fordulatszámnál 15-20 másodpercig keverjük. Ekkor már elkezdődik az aktív szűrési folyamat első fázisa. A keverés közben a csövecskét az ujjheggyel tudjuk rögzíteni. A munkamenet után kb. a fele szuszpenzió máris az alsó II- es munkacsövecskében van. Ha nincs rázó/keverőkészülék, akkor kézzel legalább 30 másodpercig (időmérő jelenlétében) erősen és kitartóan rázzuk a csövecskét, hogy a szuszpenzió jól összekeveredjen. Ezáltal a mintában lévő fázisok egymástól való elválasztása elkezdődik, ami előfeltétele a paraziták jó minőségű dúsításának.

## **Az aktív szűrés befejezése**

A maradék anyagot, ami a szűrőn felüli csövecskében maradt, könnyed rázással (mint a hőmérőnél) átrázzuk az alsó csövecskébe. Ez az aktív szűrési folyamat második, befejező fázisa, ami tovább fokozza a paraziták leválasztását és dúsítását. A szuszpenziót ezután 1-2 percre betesszük az állványba, hogy leülepedhessen.

## **Fázisválasztás, centrifugálás**

A megszűrt szuszpenziót 5-10 percig 1500 g- nál centrifugáljuk. Ha centrifuga nem áll rendelkezésre, úgy a csövecskét legalább 1-2 órára, vagy hosszabb időre, pl. éjszakára állni hagyjuk. A csövecske rendszert biztonsági okokból zártan kell tartani, mert kiszáradás esetén a próbaanyag tönkre megy és a diagnózisra használhatatlan lesz.

A centrifugálás után a II- es munkacsövecskében 4 fázis válik külön. Van azonban olyan próbaanyag is, ahol csak 3 fázis fejlődik ki.

## **Az I- es munkacsövecske és a filter elválasztása**

Az I-es munkacsövecskét a filterrel együtt lecsavarjuk és eldobjuk. Ha szükséges, a filter tartalmát makroszkópikus vizsgálatnak vethetjük alá (Pl. Taenia sp. proglottidok végett).

## **A parazitával telt réteg dúsítása és izolálása**

A felső szilárd réteget egy vattapálcika segítségével a II-es munkacsövecske belső falától óvatosan eltávolítjuk. Ezután a felső folyékony rétegekkel együtt óvatosan dekantáljuk (leöntjük). Hagyjuk jól lecsepegni. Ne rázzuk, mert így a csövecske legalján lévő dúsított fázis, amiben a paraziták vannak, elveszhet.

## **A dúsított réteg felhígítása**

A hígításhoz kb 0,1- 0,2 ml fiziológiai sóoldatot öntünk a II- es munkacsövecskébe (Sokan Medium "A"- val hígítanak, mert ez hetekig/hónapokig megőrzi az anyagot egy későbbi kontrolvizsgálatra). Ha a paraziták intenzívebb megfestése kívánatos, még ehhez lehet 1- 2 csepp hígított Medium "C"- t hozzáadni.

## **A dúsított réteg felhasználása**

A koncentrátumot a hegyes csövecskében, egy egyszer használatos pipettával, többszöri felszívással és kinyomással jól összekeverjük.

**FONTOS:** Ha a koncentrált réteg még túl sűrű, akkor azt tovább kell hígítani.

## **Előkészület a mikroszkópiai vizsgálatához**

Tárgylemezenként legtöbbször elegendő egy pár csepp felhígított székletkoncentráció (40- 50  $\mu$ l). A diagnózis számára legalább két tárgylemezt kell átvizsgálni.

## **Optimális beállítás a mikroszkópiai vizsgálatához**

A vizsgálandó koncentrátumot a szokásos vékony üvegfedőlemezzel lefedjük (24 x 36 mm, de inkább 24 x 60 mm legyen!).

Ügyeljen arra, hogy

a kapilláris erő segítségével az anyag az egész vizsgálandó felületet egyenletesen fedje le,

a preparáció ne legyen túl koncentrált, úgy hogy a preparátumon keresztül még egy nyomtatott szöveget is könnyen el lehessen olvasni.

## **Székletminta vétele segédeszközökkel**

Ha szükséges, a mintavétel egy kis papír- vagy fakanalacska segítségével történhet. Ezzel a segédeszközzel a lyukacsos betétbe berakjuk az anyagot. Ezt a segédeszközt a higiéniai előírásoknak megfelelően kell eldobni, ill. ártalmatlanná

tenni, hogy az egy további kontaminációs lehetőséget kizárjon.

## **FIGYELEM**

**Higiéniai és diagnosztikai okokból tilos a kanalat újra felhasználni.**

### **Mintavétel folyékony székletből, vizsgálat vizeletből és más testfolyadékból**

A mintavétel folyékony székletből és vizeletből az egyszer használatos pipetta segítségével történik. A pipetta tartalmát óvatosan a Medium "A"-val töltött transzportcsövecskébe töltjük. A nyálkás és véres lepedéket a papírkanállal töltjük a transzportcsövecskébe. Ne felejtsük el azonban ezen anyagok natív vizsgálatát sem (*Schistosoma* sp., *Entamoeba histolytica* vegetatív formái, t.k.).

Ajánlott eljárás vizelet és nyombélváladék esetén: Kb. 10- 20 ml friss próbaanyagot 5 percnyi időre maximális fordulatszám mellett kell centrifugálni. Nyomban utána 0,5 ml- t a kicsapódott szedimentációs rétegből az egyszer használatos pipetta segítségével kiveszünk és a Medium "A"-val töltött transzportcsövecskébe töltünk. Ezáltal elkerüljük a baktériumok szaporodását, amik főleg az érzékeny vegetatív formákra, ill. azok morfológiájára lehetnek káros behatással.

**FIGYELEM:** a pipettával maximum 0,5 ml koncentrátumot vigyünk át.

A pipettát tilos más vizsgálatokra újra felhasználni. Használat után a pipettát egy papírba, vagy egy jól záródó műanyagzacskóba becsomagolva ki lehet dobni olyan szeméttbe, ami a kontamináció lehetőségét kizárja. Ha elégetjük a szeméttel, a környezet számára ez nem jelent veszélyt, mert az anyag halogéneket nem tartalmaz.

### **A transzport / I- es munkacsövecske feltöltése Medium "A"-val**

Ha a transzportcsövecske üres, a következőképpen kell eljárni: a csövecske kupakját eltávolítjuk és 3,5 ml Medium "A"- t óvatosan beleöntünk. A betétes kupakkal rögtön jól elzárjuk, hogy párolgás, vagy más behatás által a tartalma ne változzon meg a vizsgálat kezdetéig.

**FONTOS:** Csak az előírt mennyiség betartásával lehet a jó vizsgálati eredményt garantálni.

### **Kompatibilitás laboratóriumi eszközökkel**

A Biosepar- szisztémát úgy tervezték, hogy lehetőleg minden kémcsőtartó, amit érvizsgáló fiolákhoz is használnak, alkalmazható legyen.

**ELŐNYÖK:** Kevés helyen maximális számú vizsgálatot lehet elvégezni a Bioszepar szisztémával.

A Biosepar szisztéma minden hagyományos centrifugában (pl. a hagyományos vércentrifuga készülékben) alkalmazható. Használjon egy olyan centrifugabetétet, ami 25-26 mm átmérőjű csövecskékhez való, vagy egy olyan betétet, ami a standard vérvizsgálócsövecskékhez (Ø ca. 17 mm) passzol, de ne legyen magasabb 55 mm-nél. Idevonatkozó kérdését beszélje meg az Ön centrifugaszállítójával, vagy laboratóriumi szakkereskedőjével, vagy a Biosepar céggel. Ha a centrifúgarotor átmérője túl kicsi, akkor az I-es csövet a filterrésszel együtt már a centrifugálás előtt eltávolítjuk és csak a II-es csövecskét centrifugáljuk le. A II-es csövecskét lezáró kupak a Biosepar cégnél beszerezhető.

### **Medium "A", "B", "C"**

A Medium "A", "B" és "C" folyadékok betöltése kényelmesen, biztonságosan és precízen beállítható egy adagoló diszpenzerrel ( beszerezhető a Biosepar cégnél) történik. Ez nemcsak időt és fáradságot takarít meg, hanem tovább fokozza a metódus minőségét és hathatóságát.

### **A próbaanyaggal megtöltött transzportcsövecske szállítása**

A Biosepar- szisztéma megfelel az európai postai előírási normáknak.

A Biosepar- csövecskék megfelelő, erős, törésbiztos anyagból készültek.

Biztonsági okokból ajánlatos a csövecskéket egy csavaros tetejű tartálybetétben elküldeni ( ez is egy európai postai előírás). Minden konvencionális vérszállítótartályban két transzportcsövecskét lehet elhelyezni.

**FONTOS:** Ha transzportcsövecske a szállítás folyamán megsérülne, vagy kifolyna, nem áll fenn veszély.

Az előírásnak megfelelően megtöltött és kezelt csövecskék tartalma nem fertőző, mert a Biosepar szállító/munkafolyadék a fertőző csírákat rövid időn belül ártalmatlanná teszi.

### **Medium "A" FixSepar® ECO**

Az új, formalinmentes, környezetkímélő transzport- és egyben konzerváló folyadék felhasználása nem változtatja meg a használati utasításban előírtakat. Kivétel:

A mikroszkópiai vizsgálat előtti esetleges utánfestésnél a **ParasiTrap®**

**Medium "C"**-t csak erősen felhígítva (1:5 - 1:0) használjuk. Ellenkező esetben egy kristályosodási folyamat léphet fel, ami a vizuális mikroszkópikus vizsgálatot bizonyos esetekben zavarhatja, ill. megnehezítheti.