

Kvantitatívne porovnanie účinnosti sedimentačnej metódy mertiolát jód formalínovej a flotačnej metódy so síranom zinočnatým

František Ondriska^{1,2}, Vojtech Boldiš², Lucia Ondrejková¹

¹Trnavská univerzita. Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce, Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Trnava

²Medirex, a.s. člen Medirex Group, úsek parazitológie, Bratislava

Pri kvantitatívnom porovnaní citlivosti koncentračných metód pre dôkaz cýst prvoka *Entamoeba coli* sme vyššiu efektívnosť zistili v mertiolát-jód-formalínovej (MIF) sedimentácii, ktorou sme v 100 µl sedimentu zistili významne vyšší počet cýst *Entamoeba coli* v porovnaní s Faustovou flotáciou (87,0 %, resp. 77,7 %; $P \leq 0,05$). Avšak, pri porovnaní citlivosti týchto koncentračných metód pre dôkaz vajčiek *Ascaris lumbricoides* Faustova flotačná metóda so síranom zinočnatým detegovala významne viac vajčiek (v 100 µl) ako sedimentačná MIF metóda (31,3 %, resp. 0,4 %; $P \leq 0,05$).

Kľúčové slová: koncentračná metóda, MIF, Faustova flotácia, citlivosť

Quantitative comparison of the effectiveness of the Merthiolate iodine formaldehyde sedimentation method and the zinc sulfate flotation method.

In a quantitative comparison of the sensitivity of the methods for the detection of *Entamoeba coli* cysts, we found higher efficiency in Merthiolate-Iodine-Formaldehyde (MIF) sedimentation, by which we found a significantly higher detection of *Entamoeba coli* cysts in 100 µl of sediment compared to Faust's flotation (87.0% and 77.7% respectively; $P \leq 0.05$). However, when quantitatively comparing the sensitivity of both concentration methods for the capture of *Ascaris lumbricoides* eggs, Faust's flotation method with zinc sulfate detected significantly more eggs (in 100 µl) than the MIF method (31.3% and 0.4%, respectively; $P \leq 0, 05$).

Keywords: Concentrations method, MIF, flotation method according to Faust, sensitivity.

NewsLab, 2023; roč. 14 (S): 64 – 65

Úvod

Črevné parazity sú veľkým problémom verejného zdravia a ich presná diagnóza je veľmi dôležitá. V predchádzajúcej štúdií sme sa venovali porovnaniu metód koprologickej diagnostiky najčastejšie používaných v rutinej diagnostike v našich laboratóriách. V štúdií zameranej na diagnostickú efektívnosť sme pokračovali s cieľom kvantitatívne vyhodnotiť a porovnať účinnosť dvoch koncentračných techník na detekciu črevných parazitov v laboratórných podmienkach.

Materiál a metódy

Pre porovnanie dôkazu vajčiek helmintov sme pripravili suspenziu stolice obsahujúcu 2 300 vajčiek *Ascaris lumbricoides* v 1 ml. Túto základnú suspenziu stolice sme ďalej nariedili v pomere 1: 2, 4 a 8 a pre spracovanie Mertiolát-jód-formaldehydovou (MIF) metódou a flotačnou metódou podľa Fausta sme negatívnu stolicu o veľkosti lieskového orecha naočkovali 250 µl

suspenzie z každého riedenia. Do porovnania detekcie prvokov sme do stolice veľkosti lieskového orecha naočkovali 100 µl suspenzie stolice s 22 245 cystami *Entamoeba coli*. Pripravené stolice sme dôkladne zhomogenizovali a vyšetrili sedimentačnou i flotačnou metódou technikou BIO-separ⁽¹⁾. Frekvenciu parazitárnych nálezov sme vyhodnotili pomocou intervalov spoľahlivosti pre 5 percentnú hladinu pravdepodobnosti chyby⁽²⁾.

Výsledky

1. Porovnanie citlivosti koncentračných metód pre dôkaz vajčiek *Ascaris lumbricoides* (tabuľka 1). Zo všetkých pripravených riedení sme vyšetrovali prípravky o objeme 100 µl sedimentu alebo povrchovej blanky.

Z tabuľky 1 je zrejma jednoznačná kvantitatívna dominancia vajčiek *A. lumbricoides* dokázaných koncentráciou v sírane zinočnatom. Vo všetkých štyroch riedeniach s infekčnými náložami vajčiek flotácia detegovala v priemere 50 % vajčiek

Tabuľka 1. Detekcia vajčiek *A. lumbricoides* koncentračnými metódami v modelovom pokuse

Počet vajčiek <i>A. lumbricoides</i> dodaných do stolice (250 µl)		Počet vajčiek v MIF metóde Abs/%		Počet vajčiek vo Faustovej metóde Abs/%	
Riedenie 1:	Počet vajčiek	Počet v 100 µl	Počet v 250 µl/(%)	Počet v 100 µl/(%)	Počet v 250 µl (%)
Konc.	575	2 (0,4)	5 (0,9)	180 (31,3)	450 (78,3)
2	288	1 (0,4)	2,5 (0,9)	41 (14,2)	103 (35,7)
4	144	0	0	24 (16,4)	60 (41,1)
8	72	0	0	13 (17,8)	33 (44,5)

z pôvodnej nálož, v koncentrovanej nálož, až 78,3 % vajčiek. Sedimentačná metóda MIF naopak zachytila v dodanom objeme 250 µl iba necelé jedno percento vajčiek, ktoré boli dodané v koncentrovanej nálož, a riedenej 1 : 2.

Diskrepancie sú veľké, ale dajú sa vysvetliť technikou spracovania jednotlivých metód, kde hlavne v sedimentačnej metóde sa časť vajčiek *A. lumbricoides*, ktoré majú nerovnaký chitinózny povrch s rôznymi výstupkami, zachytáva na filtre, časť je zachytená v zátke z detritu, ktorý sa odstraňuje. Naopak, pri flotácii sú straty vajčiek iba pri premývaní a niektoré nemusia vyflotovať. Tieto straty, ako to vidno z **tabuľky 1**, sú však významne menšie ako pri sedimentačnej metóde.

Tento predpoklad sme si overili na jednoduchom pokuse. Vybranú vzorku stolice o veľkosti lieskového orecha s vajčkami *A. lumbricoides* sme vyšetrili sedimentačnou metódou MIF a flotačnou metódou so síranom zinočnatým štandardnými postupmi, tak ako vyšetrujeme každú stolicu v rutinej diagnostike. Testy sme vyhodnotili tak, že pri MIF metóde sme spočítali počty vajčiek v sedimente, vo výplachu z filtra, v zátke detritu. Vo flotácii v sírane zinočnatom sme taktiež spočítali vajčička v povrchovej blankete zachytenej na krycom sklíčku a taktiež vajčička v sedimente. Počet vajčiek sme prepočítali na jeden mililiter. Výsledky sú uvedené v **tabuľke 2**.

Tabuľka 2. Dôkaz vajčiek *A. lumbricoides* v jednotlivých vrstvách v koncentračných metódach

Koncentračná metóda	Počet vajčiek/ml
MIF sediment*	220
MIF Filter	401
MIF vrstva detritu	0
Faust povrchová blanka*	1460
Faust sediment	12

* Štandardne vyšetrované preparáty

Vyššie uvedený predpoklad sme potvrdili, napriek tomu nás prekvapil vysoký počet vajčiek *A. lumbricoides* zachytených na kovovom sitku systému BIO-separ, ktoré unikajú diagnostikovej pozornosti a výťažnosti MIF metódy.

2. Porovnanie efektivity koncentračných metód pre diagnostiku protozoí. Výsledok porovnania oboch metód je uvedený v **tabuľke 3**.

Porovnaním diagnostikovej efektivity záchytu cýst prvoka *E. coli* sme spočítaním cýst prvoka v 100 µl sedimentu

Tabuľka 3. Efektívnosť záchytu cýst *Entamoeba coli* koncentračnými metódami

Koncentračná metóda	Počet cýst v prepočte na 100 µl koncentráta	
	abs	CI (% , P ≤ 0,05)
Sedimentácia MIF	19 360	87,0 ± 0,4
Faustova flotácia	17 280	77,7 ± 0,6

a povrchovej blankete flotačného roztoku zistili významne vyššiu detekciu cýst v sedimentačnej MIF metóde. Aj takto jednoducho postavená metóda vypovedá o porovnateľnej citlivosti oboch metód pre diagnostiku črevných protozoí.

Diskusia

Cieľom tejto štúdie bolo kvantitatívne vyhodnotenie a porovnanie diagnostikovej citlivosti koncentračných metód: sedimentačnej MIF metódy a Faustovej flotačnej metódy. V rámci efektivity záchytu vajčiek *Ascaris lumbricoides* sa vo vyššej miere uplatnila flotačná metóda podľa Fausta, ktorá v nami pripravenej riedenej vzorke zachytila 78,3 % vajčiek z použitej celkovej nálož. Inú situáciu sme zaznamenali pri detekcii cýst prvoka *Entamoeba coli*, pri ktorej dominovala sedimentačná MIF metóda, ktorou sme v sedimente zistili vyšší záchyt cýst v porovnaní s Faustovou flotáciou. Podobne Inês et al.⁽³⁾ zistili významne citlivejšiu flotačnú metódu so síranom zinočnatým pri diagnostike vajčiek helmintov *Trichuris trichiura*, *Enterobius vermicularis* a lariev *Strongyloides stercoralis* v porovnaní so sedimentáciou. Pri dôkaze prvokov však, na rozdiel od nás, nezistili významné rozdiely. Taktiež Pakdad et al.⁽⁴⁾ považujú sedimentačné koncentračné metódy citlivejšie na dôkaz prvokov. S našimi výsledkami nekorešpondujú výsledky Ananias et al.⁽⁵⁾, ktorí porovnávali citlivosť záchytu *Giardia intestinalis* nimi použitej sedimentácie (tzv. Lutzova technika) a flotácie v ZnSO₄. Faustovou metódou zistili vyšší počet cýst ako sedimentačnou metódou. Výsledkové diskrepancie mohli byť spôsobené použitím iných variantov sedimentačných techník a našou technikou.

Záver

Z oboch prác, ktoré sme zamerali na porovnanie diagnostikovej efektivity koprologických metód, aj v tejto práci sme potvrdili nutnosť používania kombinácie minimálne dvoch techník pre spoľahlivú diagnostiku črevných parazitov. Pre rutinnú diagnostiku odporúčame kombináciu náteru podľa Katoa a niektorú z koncentračných metód.

LITERATÚRA

- Ondriska F, Boldiš V, Garajová M, Mrva M. Klinická parazitológia. 1.vyd. Bratislava: PRIF UK, 2016.
- Venčíkov AI, Venčíkov VA. Základní metody statistického zpracování dat ve fyziologii. 1. vyd. Praha: Avicenum. 1977.
- Inês EJ, Pacheco FTF, Pinto MC, et al. Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites. Biomedica 2016; 36(4): 519–524.

- Pakdad K, Nasab SDM, Damraj FA, Ahmadi NA. Comparing the efficiency of four diagnostic concentration techniques performed on the same group of intestinal parasites. Alex J Med 2018; 54(4): 495–501.
- Ananias FL, Ferraz RRN, Barbosa AP, et al. Evaluation of the sensitivity of Faust method and spontaneous sedimentation for the diagnosis of giardiasis. Rev Cubana Med Trop 2016; 68(2): 157–164.

prof. RNDr. František Ondriska, PhD.
Medirex Group a.s., Úsek parazitologie
Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava
e-mail: frantisek.ondriska@medirex.sk