

Ontlasting onderzoek voor de aanwezigheid van parasieten bij de hond

Deel 1: monstervoorbewerking

Auteur: Tom Schotman

Versie 1:

Deze versie is nog een testversie en wordt op basis opmerkingen en dergelijke van de cursusdeelnemers verder aangepast/verduidelijkt. Er komt een deel 2 met de microscopische kenmerken van de vaker voorkomende parasieten.

Er komt nog een foto versie.

Direct Smear

Benodigdheden:

Fysiologisch zout (kan je maken door 9 gram zout per 1000 ml op te lossen)

Lucifers

Pipet + speen (indien glas pipet)

Object- en dekglas (standaard is een 18x18mm dekglas).

Doel is om simpel en snel een direct preparaat te maken waarbij je voornamelijk bij Giardia een snel resultaat kan behalen.

Voordelen:

Redelijk goed voor Giardia (bij verse poep kunnen giardia cysten waargenomen worden omdat ze door het preparaat heen bewegen)

Snel gemaakt bij verwachting van veel eitjes/Giardia

Nadelen:

Niet specifiek dus zal veel 'achtergrond' rotzooi bevatten

Geen concentratietechniek dus lage kans op het vinden van eitjes die in lagere concentratie aanwezig zijn

Stappen:

1. Breng op een objectglas een druppel fysiologisch zout
2. Gebruik de niet afstrijkzijde van een lucifer en breng hier wat poep op aan
3. Smeer de poep in de fysiologisch zout oplossing in een ronddraaiende beweging. Probeer ongeveer een vierkantje te maken van 10x10 mm.
4. Als er dikke/grote deeltjes opzitten, probeer deze te verwijderen (lukt het niet, probeer dan even opnieuw).
5. Plaats een dekglas op het smeersel.

Baermann methode

Benodigdheden:

Trechter of glas met smalle bodem (denk aan champagne glas of een regenmeter)

Gaas

Satéprikker en elastiek

Pipet + speen

(demi)water

Lugol's Iodine oplossing (concentratie niet kritisch)

Object- en dekglas.

Doel is om uit een onlasting monster larven te extraheren door middel van het gebruik van verschil in dichtheid tussen de larven (hoger dan 1) en water (1), de larven zullen hierdoor zinken.

Voordelen:

Zeer geschikt wanneer larven verwacht zijn zoals bij de Franse Hartworm of een vergevorderde besmetting van andere parasieten.

Na wat oefenen, is het een vrij eenvoudige techniek.

Nadelen:

Niet geschikt voor eitjes en moet ook niet te lang blijven staan omdat eitjes uit kunnen komen. Larven worden niet altijd uitgescheden, deze test dient nog 2x herhaald te worden wanneer het eerste resultaat negatief is.

Stappen:

1. Breng een redelijke hoeveelheid poep (5-10 g) over in een verbandgaas of in een zeef. Zorg bij het inpakken dat de poep alleen via het gaas/de zeef het water raakt.
2. Doe de poep in het glas/de trechter en vul het met water zodat de poep net onder water staat. Zorg dat het verbandgaas niet uit het glas hangt (door de capillaire werking zal het vocht uit het glas lopen via het gaas, niet lekker!)
3. Laat de oplossing voor 18 tot 24 uur staan. Niet langer want dan kunnen larven van eventuele andere eitjes uitkomen welke soms moeilijk onderscheiden kunnen worden van de larven van de Franse hartworm.
4. Wanneer de oplossing lang genoeg heeft gestaan is het belangrijk dat het materiaal op de bodem niet teveel gestoord wordt. De poep kan voorzichtig verwijderd worden om meer ruimte te maken.
5. Pipetteer van de bodem een deel van de vaste stoffen die daar zijn verzameld. Pipetteren ervan is een handigheidje en met je pipet vol lucht kan je het beste in de vloeistof zitten, helemaal bovenaan in de vloeistof druk je de pipet wat in. Ga dan naar de bodem en pipetteer voorzichtig een groot deel op.
6. Breng dat deel op een objectglas welke je eventueel kan aankleuren met Lugol's iodine oplossing (dit kleurt de larven iets en maakt ze dood). Plaats een dekglas erop.

Dubbele centrifugale scheiding (zonder centrifuge...)

Benodigdheden:

Reageerbuis + rek

(demi)water

Glucose oplossing (454 g suiker / 355 ml)

Evt. centrifuge/handcentrifuge (mss te maken uit een sla centrifuge, moet wel loshangend zijn)

Houten spateltjes (denk aan brede kant van tapasprikkers)

Bekertjes en (thee)zeefje

Object- en dekglas.

Doel is om op basis van dichtheid de eieren van wormen zo geconcentreerd mogelijk te scheiden van andere deeltjes om op die manier de eventuele aanwezigheid van de eitjes te kunnen aantonen.

Voordelen:

Het is een zeer goede methode voor het concentreren van eitjes uit de ontlasting. Met de glucose oplossing kunnen eigenlijk alle veel voorkomende eitjes geconcentreerd worden en heb je relatief weinig rotzooi die de analyse bemoeilijkt.

Nadelen:

Uitdroging van de larven, dus kan ze wel soms aantonen maar niet identificeren (hiervoor Baermann methode)

Giardia is in dit stadium niet meer actief, dus zal niet bewegen, en door de kleinheid kunnen ze moeilijk aan te tonen zijn.

Zonder centrifuge is het een iets moeilijker methode.

Stappen:

1. Pak ongeveer 1 g poep en spoel dit in een bekertje met water.
2. Zeef dit mengsel met de zeef en breng het over in een reageerbuis, duw het residu in de zeef nog wat uit. Vul de reageerbuis aan met water.
3. Centrifugeer de buis of laat het een tijdje staan zodat de vaste stoffen kunnen bezinken/drijven.
4. Verwijder al het water, dit kan met een pipet of als je gecentrifugeerd hebt kan je het afgieten (door centrifugeren raakt de bodem wat vaster).
5. Voeg de reageerbuis voor de helft met de glucose oplossing en mix het mengsel wat zodat het goed loskomt. Vul de reageerbuis nu verder met de glucose oplossing.
6. Zorg dat de reageerbuis nu helemaal vol is zodat er op de rand van de bovenkant een meniscus te zien is. Leg hier het dekglas op.
7. Centrifugeer de buis weer of laat het enige tijd staan (als er geen deeltjes meer in het midden rondrijven moet het goed zijn).
8. Haal het dekglas er voorzichtig af en leg dit op het objectglas.