

Die MIFC-Methode in verschiedenen Modifikationen für das parasitologische Routinelabor

E. Albrecht, St. Schubert

Einleitung

Die koproskopische Untersuchung liefert mit der Möglichkeit des Direktnachweises parasitärer Entwicklungs- und Dauerstadien die entscheidende diagnostische Aussage zum Nachweis einer Helminthen- bzw. Protozoeninfestation.

Durch die Entwicklung zahlreicher Modifikationen, die Verbesserung bestehender Verfahren und nicht zuletzt mit der Einführung neuer Nachweistechiken verfügen wir über eine große Auswahl labordiagnostischer Verfahrensweisen, die aber auch als Ausdruck einer gewissen Unsicherheit zu werten sind (13). Kritisch muß konstatiert werden, daß die unterschiedliche Leistungsfähigkeit vieler routinediagnostisch genutzter Methoden eine sichere Bewertung der erhaltenen Resultate nicht gestattet. Es existiert kaum ein Nachweisverfahren, dessen Anwendung und Leistungsfähigkeit zu einer allgemeinen Verbindlichkeit verpflichten würde (8). Eine für die Routinediagnostik optimale Untersuchungsmethode sollte folgende Bedingungen erfüllen:

Sie sollte zeitsparend, wenig kosten- und materialaufwendig sein und bezüglich der Artenerfassungsbreite, der Stadienzahlerfassung und der diagnostischen Sicherheit gute Ergebnisse liefern (3).

Material und Methoden

Zielstellung der vorliegenden Arbeit war es, etablierte koproskopische Methoden mit der MIFC-Methode in der Modifikation nach DESCHIENS (5) hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit durch Analyse identischer Stuhlproben zu vergleichen (Tab. 1).

Unter diesem Aspekt wurden zur diagnostischen Abklärung einer Helminthen- bzw. Protozoeninfestation 3.859 Stuhlproben von überwiegend aus dem tropischen und subtropischen Ausland eingereisten Probanden untersucht.

In Auswertung experimenteller Arbeiten von ERDMAN (7) und YOUNG (15) mit der RITCHIE-Methode sollte die durch den Einsatz von Diäthyläther, Äthylazetat bzw. eines Diäthyläther-Äthylazetatgemisches unsererseits modifizierte MIFC-Technik Aufschluß darüber geben, welcher Wert aus diagnostischer Sicht dem Einsatz unterschiedlicher Lösungsmittel beizumessen ist. Zusätzlich war es unser Anliegen zu prüfen, ob der kombinierte Einsatz von Lugol'scher Lösung und Eosin einen fördernden Einfluß auf die Darstellbarkeit artspezifischer Strukturen bei Wurmeiern und Protozoenstadien hat.

TABELLE 1
Methodenspektrum zum Intestinalparasitennachweis

A) <u>Helminthologische Nachweistechiken</u>	
1. Präparation nach KATO und MIURA (1954) in der Modifikation nach KOMIYA und KOBAYASHI (1966)	Transparenz des Stuhldirektausstriches wird durch Abdecken mit einem in Glycerol-Malachitgrünlösung eingelegten Zellophanstreifen erreicht. Helmintheneier sind als nicht transparente Abbilder erkennbar.
2. MIFC-Methode: Merthiolate-Iodine-Formaldehyde-Conzentration nach BLAGG et al. (1955) modifiziert nach DESCHIENS (1956)	Merthiolat-/Formaldehydlösung fixiert und konserviert Parasitenstadien im Stuhl. Entfernung grober Stuhlbestandteile durch Filtration. Ausschütteln des Filtrats mit Diäthyläther bzw. Äthylazetat (MIFC). Durch
3. RITCHIE-Methode: Formaldehyd-Äther-Konzentrationsverfahren nach RITCHIE (1948) in der Modifikation nach ALLEN u. RIDLEY (1970)	Dichtegradientenzentrifugation Anreicherung der Entwicklungsstadien von Intestinalparasiten im Sediment.
B) <u>Protozoologische Nachweistechiken</u>	
1. Modifizierte Eisenhämatoxylin-Färbung nach HEIDENHAIN (DAB 7 DDR)	Nachweis und differenzierte Darstellung der Entwicklungsstadien von Darmprotozoen. Fixieren des Stuhlausstriches in Sublimatalkohol und anschließendes Färben mit Eisenhämatoxylin.
2. Schnellfärbung nach LAWLESS (1958)	Schnellfärbemethode durch Anwendung einer kombinierten Farbfixierlösung (Sublimatalkohol/Lichtgrün)
3. MIFC-Methode	siehe A) Punkt 2.
4. RITCHIE-Methode	siehe A) Punkt 3

Da bei allen überprüften Nachweisverfahren annähernd gleichbleibende Ausgangsbedingungen bestanden, liegt dem Vergleich der einzelnen Methoden eine einheitliche Basis zugrunde.

Anhand einer repräsentativen Stuhlprobenzahl wird der diagnostische Stellenwert methodisch unterschiedlicher koprooskopischer Untersuchungsverfahren dargelegt.

Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse helminthologischer Untersuchungen von 2.494 Stuhlproben mit der KATO-, RITCHIE- und der modifizierten MIFC-Methode läßt eine Korre-

lation der ermittelten Erfassungsquoten zu bestehenden Unterschieden bei der präparativen Aufbereitung des Probenmaterials erkennen. Bei Anwendung der MIFC-Technik hat der Einsatz unterschiedlicher Lösungsmittel Einfluß auf die Erfäßbarkeit parasitärer Stadien im Stuhl. Die Gesamtausbeute von Wurmeiern konnte durch Verwendung von Äthylazetat signifikant gesteigert werden (Tab. 2).

Mit dem Einsatz eines Diäthyläther-Äthylazetatgemisches gelang es, bei der Erfassung der Eier von *Ascaris lumbricoides* bzw. *Trichuris trichiura* durch Verwendung von Diäthyläther bzw. Äthylazetat aufgetretene Diskrepanzen weitestgehend auszugleichen. Jedoch ist im Vergleich mit der MIF₂-Methode bei der Mehrzahl der mit MIF₃ erfaßten Evasionsstadien von Helminthen die Nachweisquote geringfügig niedriger (Tab. 3).

Durch den kombinierten Einsatz von Lugol'scher Lösung und Eosin bietet die MIFC-Methode in der Modifikation nach DESCHIENS den Vorteil, artspezifische Strukturen von Wurmeiern deutlich sichtbar zu machen. In dem durch Eosin leicht angefärbten und von Detrituspartikeln weitestgehend befreiten Umfeld gelang es, die farblosen und durchsichtigen Eier von *Ancylostomatidae*, *Opisthorchiidae*, *Schistosoma mansoni* und *Hymenolepis nana* auf Grund klarer, scharf konturierter Strukturen und der farblich kontrastierenden Darstellung des Eiinhaltes sicher zu diagnostizieren.

In Auswertung der Ergebnisse protozoologischer Untersuchungen von 1.365 Stuhlproben mit der RITCHIE- und der modifizierten MIFC-Methode sowie den Färbemethoden nach HEIDENHAIN und LAWLESS konnte statistisch abgesichert werden, daß die MIF₂-Methode und die HEIDENHAIN-Färbung hinsichtlich ihrer diagnostischen Sicherheit als gleichwertig und als Methoden der Wahl zu beurteilen sind. Mit den höchsten Erfassungsquoten waren die MIF₂-Methode und das HEIDENHAIN-Präparat den anderen protozoologischen Nachweisverfahren signifikant überlegen (Tab. 4 und 5). Betreffs der Beurteilung morphologischer Details bei Protozoenstadien sei festgestellt, daß mit der MIFC-Methode die für eine Artdiagnose bedeutungsvollen Zysten- und Kernstrukturen in einer mit der HEIDENHAIN-Färbung vergleichbaren Weise gut darstellbar sind.

Diskussion

Über vergleichende Untersuchungen mit der modifizierten MIFC-Methode konnte bewiesen werden, daß der durch den Einsatz von Diäthyläther beabsichtigte Lösungseffekt nicht zur vollständigen Freisetzung der Eier aus der unterschiedlich zusammengesetzten Kotprobe führt. Analog der von anderen Autoren (6, 12) bei Durchführung der TELEMANN-Methode gemachten Erfahrungen gelang es, bei Anwendung der MIF₁-Methode im Pfropf vermehrt Eier nachzuweisen. Es wird diskutiert, daß, je intensiver die Zentrifugierflüssigkeit zur Bläschenbildung neigt, umso größer die Möglichkeit ist — und hier besonders für Askarideneier mit ihren Eiweißhüllen — von den Bläschen mit nach oben gerissen zu werden (6). Durch die adsorbierende Kraft der Äthertröpfchen werden Wurmeier in großer Anzahl im Detrituspfropf zurückgehalten (12).

Bei Anwendung von Äthylazetat halten wir es für möglich, daß beim Ausschütteln mit dem spezifisch schwereren Lösungsmittel der langsam aufsteigende und stark verringerte Bläschenstrom in eingeschränktem Umfang bereits freigesetzte Eier in den Pfropf zurückführt. Andererseits ist jedoch nicht auszuschließen, daß Äthylazetat über Veränderungen der Oberflächenstruktur am Ei zu einer stärkeren wurmfreisetzung aus der Kotprobe führt. Unter der Einwirkung von Äthylazetat könnten chemische Veränderungen an der äußeren klebrigen Eiweißhülle von *Ascaris lumbricoides* als auslösende Komponente besserer diagnostischer Erfäßbarkeit eine Rolle spielen.

TABELLE 2

Serie A: Vergleich der helminthologischen Auswertung mit KATO-, MIF₁- und MIF₂-Methode
n = 1647 Stuhlproben

Befund	Gesamtzahl der mit den Methoden 1. - 3. erfaßten Parasitenträger	Methodenabhängige Erfassungshäufigkeit bez. auf die Ges.-zahl der erf. Parasitenträger					
		1. KATO		2. MIF ₁ (Äther)		3. MIF ₂ (Äthylazetat)	
		absolut	%	absolut	%	absolut	%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	349	304	87	251	72	338	97
<i>Trichuris trichiura</i>	417	342	82	371	89	329	79
Ancylostomatidae	184	141	77	153	83	167	91
<i>Schistosoma mansoni</i>	58	43	74	54	93	56	96
Opisthorchiidae	26	16	63	21	81	23	89
<i>Fasciolopsis buski</i>	17	13	78	14	85	15	88
<i>Fasciola hepatica</i>	4	3	75	3	75	2	50
<i>Taenia spec.</i>	23	21	94	20	89	22	96
<i>Hymenolepis nana</i>	27	18	67	21	78	25	93
SUMME	1105	901	82	908	82	977	88

TABELLE 3

Serie B: Vergleich der helminthologischen Auswertung mit KATO-, MIF₃- und RITCHIE-Methode · n = 847 Stuhlproben

Befund	Gesamtzahl der mit den Methoden 1. - 3. erfaßten Parasitenträger	Methodenabhängige Erfassungshäufigkeit bez. auf die Ges.-zahl der erf. Parasitenträger					
		1. KATO		2. MIF ₃		3. RITCHIE (Äther-Äthylaz.-Gem.)	
		absolut	%	absolut	%	absolut	%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	173	152	88	164	95	145	84
<i>Trichuris trichiura</i>	219	184	84	193	88	199	91
Ancylostomatidae	79	58	73	69	87	62	79
<i>Schistosoma mansoni</i>	18	14	76	16	89	13	74
Opisthorchiidae	13	8	59	11	87	7	57
<i>Fasciolopsis buski</i>	8	6	75	8	100	5	65
<i>Fasciola hepatica</i>	0	0	0	0	0	0	0
<i>Taenia spec.</i>	5	5	100	5	100	5	100
<i>Hymenolepis nana</i>	16	10	64	15	91	11	71
SUMME	531	437	82	481	91	447	84

TABELLE 4
Vergleich der protozoologischen Auswertung mit der MIF₁- und MIF₂-Methode bzw. der HEIDENHAIN- und LAWLESS-Färbung
 n = 787 Stuhlproben

Befund	Gesamtzahl der mit den Methoden 1. - 4. erfaßten Parasitentträger	Methodenabhängige Erfassungshäufigkeit bezogen auf die Gesamtzahl der erfaßten Parasitentträger							
		1. MIF ₁ (Äther)		2. MIF ₂ (Äthylazetat)		3. HEIDENHAIN		4. LAWLESS	
		absolut	%	absolut	%	absolut	%	absolut	%
E. histolytica	57	49	86	53	93	49	86	47	82
E. coli	71	59	83	68	96	55	78	54	76
G. lamblia	39	28	72	35	91	32	83	31	80
E. nana	86	72	84	75	87	81	94	77	89
E. hartmanni	34	26	76	27	79	31	91	30	88
J. buetschlii	25	18	73	20	81	24	96	24	96
D. fragilis	3	0	0	1	33	3	100	2	66
SUMME	315	252	80	279	89	275	87	265	84

TABELLE 5
Serie B: Vergleich der protozoologischen Auswertung mit der MIF₃- und RITCHIE-Methode bzw. der HEIDENHAIN-Färbung
 n = 578 Stuhlproben

Befund	Gesamtzahl der mit den Methoden 1. - 3. erfaßten Parasitentträger	Methodenabhängige Erfassungshäufigkeit bez. auf die Ges.-zahl der erf. Parasitentträger					
		1. MIF ₃ (Äther-Äthylaz.-Gem.)		2. RITCHIE		3. HEIDENHAIN	
		absolut	%	absolut	%	absolut	%
Entamoeba histolytica	34	32	94	30	89	29	86
Entamoeba coli	45	44	98	39	87	35	79
Giardia lamblia	24	21	88	19	79	18	77
Endolimax nana	68	55	81	53	78	57	84
Entamoeba hartmanni	21	16	78	17	81	20	96
Jodamoeba buetschlii	11	10	92	9	83	11	100
Dientamoeba fragilis	3	1	33	1	33	3	100
SUMME	206	179	87	168	82	173	84

Zusammenfassung

Die MIFC-Methode in der Modifikation nach DESCHIENS bietet durch den kombinierten Einsatz von Lugol'scher Lösung und Eosin den Vorteil, artspezifische Strukturen von Wurmeiern und die für eine Artdiagnose von Protozoen bedeutungsvollen Zysten- und Kernstrukturen gut darzustellen. Bei Anwendung der MIFC-Technik hatte der Einsatz unterschiedlicher Lösungsmittel (Diäthyläther, Äthylazetat, Diäthyläther-Äthylazetatgemisch) Einfluß auf die Erfäßbarkeit parasitärer Stadien im Stuhl. Durch Äthylazetat (MIF₂) konnte die Gesamtausbeute von Wurmeiern signifikant gesteigert werden.

Schlüsselwörter

Intestinalparasitennachweis, MIFC-Methode, Diäthyläther, Äthylazetat.

Summary

The MIFC-method in various modifications and its use in the parasitological laboratory

The MIFC-method in the modification of DESCHIENS is advantageous for the identification of helminthic ova as well as protozoa due to excellent appearance of specific structures by means of the combined use of Lugol'-solution and eosin in this technique.

The use of different solvents in the MIFC-method (ether, ethylacetat, ether-ethylacetat-mixture) influenced the proof of different parasitic stages in the stool. By the use of ethylacetat the number of detected helminthic ova altogether increased significantly.

Key words

Proof of intestinal parasitoses, MIFC-method, diethylether, ethylacetat.

Literatur

1. ALLEN, A. V. H., RIDLEY, D. S. (1970):
Further observation on the formol-ether concentration technique for faecal parasites.
In: *J. Clin. Path.* 23, 545.
2. BLAGG, W., SCHLOEGEL, E. L., MANSOUR, N. S., KHALAF, G. I. (1955):
A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces.
In: *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 4, 23.
3. BRITZ, L., KRAUSE, W. (1974):
Beitrag zur Bewertung einer rationellen helminthologischen Stuhluntersuchungsmethode mit verbesserten Arbeitsbedingungen.
In: *Z. gesamte Hyg.* 20, 8, 552.
4. DAB 7 — DDR:
Diagnostische Laboratoriumsmethoden (D. L.)
Berlin: Akademie, 1974, Bd. 4, Abschn. H.
5. DESCHIENS, R.:
Technique de fixation et coloration au Merthiolate — iode et formol on M. I. F.
In: *Monographies de L'Institut PASTEUR; L'amibiase et l'amibe dysenterique.*
Paris: Masson et cie editeurs, 1965.
6. ENGELBRECHT, H., ISSERSTEDT, K., WEBER, K. (1966):
Kritische Bemerkungen zur koprologischen Anreicherungsverfahren nach Telemann und seinen gebräuchlichsten Modifikationen nach Miyagawa und Rivas.
In: *Dtsch. Gesundh. wes.* 21, 52, 2479.

7. ERDMAN, D. (1981):
Clinical comparison of ethyl acetate and diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique.
In: J. Clin. Microbiol. 14, 5, 483.
8. JUNGNIK, A. (1986):
Vergleichende Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit der Teleman-Methode (Modifikation nach Miyagawa) und der KATO-Technik unter Einbeziehung des Nativ-Präparates und des dicken Stuhlausstriches in der helminthologischen Stuhlagnostik.
Dipl. -Arbeit, Bereich Medizin KMU Leipzig.
9. KATO, T., MIURA, M. (1954):
On the comparison of some stool examination methods.
In: Jap. J. Parasitol. 3, 35.
10. KOMIYA, Y., KOBAYASHI, A. (1966):
Evaluation of KATO's thick smear technic with a cellophane cover for helminth eggs in feces.
In: Jap. J. Med. Sci. Biol. 19, 54.
11. LAWLESS, D. A. (1953):
A rapid permanent-mount stain technic for the diagnosis of the intestinal protozoa.
In: Am. J. Trop. Med. Hyg. 2, 1137.
12. OCKERT, G. (1966):
Zur Methodik parasitologischer Stuhluntersuchungen.
In: Z. med. Lab. tech. 7, 125.
13. OCKERT, G., BRITZ, L., KRAUSE, W. (1976):
Kommentar zur Standardvorschrift des DAB 7 (D. L.) — DDR.
Helminthen-Stadien: Nachweis von Wurmeiern im Kot.
In: Zent. bl. Pharm. Pharmakother. Lab. diagn. 115, 9, 913.
14. RITCHIE, L. S. (1948):
An ether sedimentation technique for routine stool examinations.
In: Bull. U. S. Army M. Dept. 8, 762.
15. YOUNG, K. H., BULLOCK, S. L., MELVIN, D. M., SPRUILL, C. (1979):
Ethyl Acetate as a substitute for diethyl ether in the Formalin-Ether Sedimentation Technique.
In: J. Clin. Microbiol. 10, 6, 852.

KORRESPONDENZADRESSE:

Dr. rer. nat. Erhard Albrecht
Ambulanz für Tropenmedizin der Universität Leipzig

Kickerlingsberg 14
O-7022 Leipzig · Bundesrepublik Deutschland

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie](#)

Jahr/Year: 1991

Band/Volume: [13](#)

Autor(en)/Author(s): Albrecht Erhard, Schubert St.

Artikel/Article: [Die MIFC-Methode in verschiedenen Modifikationen für das parasitologische Routinelabor. 183-190](#)