



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Estudio Comparativo de Cuatro
Métodos Empleados en el
Diagnóstico de las Parasitosis
Intestinales.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

Racío Abigail Arriaga Hernández

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.,
MARZO DE 1989



C119

71

7

.1





1080074993



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**Estudio Comparativo de Cuatro
Métodos Empleados en el
Diagnóstico de las Parasitosis
Intestinales.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

Rocío Abigail Arriaga Hernández

SAN LUIS POTOSI, S. L. P. HA
FONDO
MARZO DE 1989



T
RC119
.71.
A7



Con amor y agradecimiento a mis Padres:

Obdolio Arriaga Guerrero

Emilia Hernández de Arriaga.

quienes hicieron posible la realización
de mi carrera.

Con cariño a mis hermanos:

Mario Obdolio

Pablo

Moisés

Eduardo

Benjamín

Emilia Olga.

A todos mis familiares.

A mis Amigas y Compañeras.

AGRADECIMIENTOS:

Mi profundo agradecimiento a :
Q.F.B. Matilde Cervantes Castillo y
Q.F.B. Lucía Pedroza Anaya por el
asesoramiento de este trabajo, por sus
consejos y amistad.

Al laboratorio de Análisis Clínicos con
servicio al Público de la Facultad de
Ciencias Químicas por las facilidades
otorgadas para la obtención de muestras.

Al laboratorio de Parasitología de la
Facultad de Ciencias Químicas por su
colaboración en la realización de este
trabajo.

INDICE.

	Página
1. RESUMEN.	I
2. INTRODUCCION.	
GENERALIDADES.	3
ANTECEDENTES.	5
MORFOLOGIA DE LAS FORMAS INFECTANTES.	8
3. OBJETIVOS.	II
4. MATERIAL Y METODOS.	
MATERIAL.	12
PREPARACION DE REACTIVOS.	13
OBTENCION DE MUESTRAS.	16
DESCRIPCION DE METODOS.	17
5. RESULTADOS.	20
6. DISCUSION.	31
7. CONCLUSIONES.	35
8. BIBLIOGRAFIA.	37

INDICE DE TABLAS.

- Tabla No. 1. Grado de positividad de cuatro métodos coproparasitológicos en la detección de formas parasitarias.
- Tabla No. 2. Efectividad de cuatro métodos coproparasitológicos en el diagnóstico de las parasitosis intestinales.
- Tabla No. 3. Asociaciones más frecuentes entre parásitos.
- Tabla No. 4. Efectividad de cuatro métodos coproparasitológicos en la detección de Protozoarios Intestinales.
- Tabla No. 5. Efectividad de cuatro métodos coproparasitológicos en la detección de diferentes especies de Protozoarios.
- Tabla No. 6. Efectividad de cuatro métodos coproparasitológicos en la detección de Helmintos.
- Tabla No. 7. Efectividad de cuatro métodos coproparasitológicos en la detección de diferentes especies de Helmintos.
- Cuadro No. I. Asociaciones entre parásitos detectados por cuatro métodos coproparasitológicos. 9

RESUMEN.

El diagnóstico de las enfermedades e infecciones parasitarias del tracto intestinal depende del hallazgo de trofozoítos y quistes de Protozoarios, así como de huevos y larvas de Helmin^{tes} en heces; la identificación de estas formas parasitarias se logra a través del análisis de la materia fecal, proceso conocido como examen coproparasitoscópico. De la gran variedad de estos métodos en cada laboratorio clínico se selecciona el más adecuado, sin embargo, es necesario conocer a fondo las ventajas y desventajas que representa el uso de los diferentes métodos.

En este trabajo se evaluaron cuatro métodos coproparasitosc^ópicos para conocer su eficiencia en la detección de formas parasitarias, estos métodos fueron: 1) La observación directa en fresco de la materia fecal; 2) el método de sedimentación de Ritchie; 3) el método de flotación de Faust original y 4) una modificación al método de Faust propuesta en el laboratorio de Análisis Clínicos con servicio al Público de la Facultad de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P.

Las variables estudiadas para cada método incluyen la efectividad que estos tienen en la detección de quistes de Protozoarios, huevos y larvas de Helmin^{tes}; las asociaciones más frecuentes entre parásitos y las diferentes especies de estos.

En la evaluación de cada método se encontró que con la técnica de sedimentación de Ritchie se obtiene mayor positividad en cuanto a detección de quistes de Protozoarios y de huevos y larvas de Helmintos, además de concentrar todas las formas parasitarias presentes en una muestra de materia fecal.

En los métodos de Faust original y modificado no se encontraron diferencias significativas en las variables estudiadas. El método Directo fue el menos eficiente en la detección de parásitos, encontrándose además desventajas tales como un alto grado de impurezas en las preparaciones microscópicas que en algunos casos puede ser motivo de confusión con los diferentes estadios de parásitos a detectar. Sin embargo, en la detección de Helmintos este método resultó más eficiente que los métodos de flotación.

En base a los resultados obtenidos se recomienda que en los laboratorios clínicos se utilicen simultáneamente una técnica de flotación y una de sedimentación; o bien, el examen directo de la materia fecal y una técnica de concentración para obtener resultados altamente confiables en el diagnóstico de las parasitosis.

INTRODUCCION.

GENERALIDADES.- Las infecciones y enfermedades parasitarias son muy comunes en todo el mundo (8), en general se cree que son problemas simples, pero por su gran prevalencia en todos los continentes el diagnóstico correcto es un punto crítico (7). La mayoría de los Helmintos y Protozoarios intestinales habitan en el colon, con excepción de Giardia lamblia la cual se encuentra en el intestino delgado del hombre. Según su ciclo de vida, las diversas formas parasitarias se expulsan en la materia fecal, de ahí que el fecalismo sea la principal forma de transmisión de dichas enfermedades (5), para su detección se realiza la observación directa de la materia fecal en pacientes con diarrea en busca de trofozoítos, ya que estos son muy frágiles y cualquier solución hipotónica o hipertónica los destruye. Las técnicas de concentración se emplean en la búsqueda de quistes de Protozoarios y huevos de Helmintos, entre las más utilizadas se encuentran los métodos de flotación de Faust y de sedimentación de Ritchie. Así mismo, para el recuento de huevos de Helmintos se emplean los métodos de Ferreira, Stoll y Kato (13). Por otro lado, en la búsqueda de larvas, que la mayoría de las veces son escasas y frágiles, se utilizan los métodos de Baermann, Ferreira y el cultivo de Harada en donde las larvas continúan su desarrollo permitiendo de esta manera su identificación (2, 13).

Un diagnóstico de laboratorio confiable en las parasitosis intestinales depende no solo del método copro-parasitoscópico empleado, sino también de evitar las posibles causas de error, tales como las que se presentan cuando se recolecta la materia fecal contaminada con orina o después del uso de antibióticos, agentes diarreicos y otros medicamentos. (8, 9).

Así mismo, son muchos los factores que influyen en la detección de formas parasitarias al emplear un método coproparasitoscópico, entre estos se encuentra el dar las indicaciones apropiadas al paciente para la correcta recolección de la materia fecal, el preservar adecuadamente las muestras para que los parásitos conserven las condiciones óptimas que permitan su identificación (8). Un factor de gran importancia es el examen de varias muestras fecales de un mismo paciente a fin de aumentar la probabilidad de detectar parásitos ya que su expulsión es intermitente (13); por otra parte, no se debe pasar por alto el control de calidad fundamental en todo trabajo y que en estos métodos involucra la revisión periódica de reactivos, material y aparatos (10).

Dentro de los laboratorios clínicos el examen de la materia fecal debe ser realizado por personal capacitado para reconocer los verdaderos parásitos, en especial los quistes de amibas que por su tamaño y forma son frecuentemente confundidos con levaduras del tipo Candida o con Blastocystis hominis (6, 9, 11).

Por otro lado, algunos elementos de origen vegetal o animal son confundidos con huevecillos de Helminths, como los granos de polen, ya que por su tamaño y coloración oscura al teñirse con lugol, son confundidos con huevos de Taenia sp y de Ascaris lumbricoides. Las larvas de Estrongiloides estercoalis y de Uncinarias han sido confundidos con pelos vegetales (I, 6).

ANTECEDENTES.- El estudio de la materia fecal con el objeto de identificar parásitos se conoce como examen coproparasitoscópico. En la actualidad, se considera que la identificación de las diversas formas parasitarias es un proceso aparentemente sencillo en el diagnóstico de las parasitosis; sin embargo, son muchos los procedimientos que no llegan a detectar todos los casos de las probables infecciones (2, II).

Hasta hoy, se conocen una gran diversidad de métodos coproparasitoscópicos entre los que se pueden mencionar los siguientes: la observación directa de la materia fecal, el método macroscópico por tamizado, los métodos de concentración de Faust, Teleman, Ritchie, Willis y Ferreira (2, I5); los métodos de recuento de Ferreira, Stoll y Kato y los métodos especiales de Baermann, Graham y el cultivo de Farada (I, 2, I3).

La observación directa en fresco de la materia fecal fué el primer recurso que se utilizó para la búsqueda de organismos parasitarios, tiene entre sus características la sencillez para llevarla a cabo, la rapidez y la economía.

Actualmente se usa para detectar trofozoitos móviles, quistes de amibas y flagelados (8). Presenta entre sus desventajas la manipulación de toda la muestra recolectada, un alto grado de impurezas en las preparaciones microscópicas y la presencia de artefactos, grasas, fibras, etc, que han sido la causa de que se prefieran otras técnicas en la identificación de parásitos (2).

El proceso de concentración por flotación fue propuesta por Bass en 1910 (13), mediante el empleo de soluciones con densidades mayores a los parásitos estudiados, de tal modo que estos flotan y en el fondo del tubo se concentra el resto de la muestra. Las diferentes soluciones empleadas para este fin son :sulfato de zinc con una densidad de 1.180 g/ml en el método de flotación de Faust (3), cloruro de sodio con una densidad de 1.200 g/ml en el método de Willis (13) y solución de sacarosa con una densidad de 1.180 g/ml (2).

El método de flotación más comunmente empleado es el propuesto por Faust y Cols. en 1938 (II, 13), en el cual los quistes de Protozoarios, huevos y larvas de Helmintos flotan en la solución de sulfato de zinc; sin embargo, este método es poco eficaz para huevos pesados como los de Taenia sp , Fasciola hepática y Ascaris lumbricoides así como para larvas de nematodos (2, 3).

Por otro lado, se han utilizado muchas modificaciones a los métodos de concentración con el propósito de facilitar el trabajo de laboratorio, ya sea cambiando, omitiendo o agregando pasos a la técnica original, entre estas se encuentra la técnica de Faust modificada en 1976 en el

laboratorio de Análisis Clínicos con servicio al Público de la Facultad de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P. el cual se incluye en este trabajo.

Así mismo, Ritchie en 1948 (2, 3, II), describió un método de sedimentación con formol y éter que es eficiente para la concentración de quistes de Protozoarios y huevos de Helmintos sin importar la densidad que estos tengan. La utilidad que tiene el éter en este método es eliminar restos orgánicos y el formol ayuda a mantener la integridad de las formas parasitarias (I2, I3).

Por todo lo anterior y ante la diversidad de los métodos coproparasitoscópicos reportados, el interés de conocer cual o cuales son los más apropiados en la detección de formas parasitarias ha propiciado que algunos investigadores se preocupen por evaluarlos en cuanto a ventajas y desventajas de unos con respecto a otros, tal es así que en 1980, en la Universidad de Sao Paulo, Brasil se compararon los métodos de flotación de Faust original y el método de sedimentación de Ritchie analizando 100 muestras fecales por cada método encontrando grandes ventajas del método de Ritchie con respecto al de Faust (7).

Por otra parte, en el laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la U.A.S.L.P. en 1976 se realizó un estudio comparativo entre los métodos de flotación de Faust y sedimentación de Ritchie modificado por Allen y Ridley (9) para muestras preservadas con mertiolate-yodo-formaldehído (MIF). Se estudiaron 284

muestras de materia fecal por cada método no encontrándose diferencias significativas entre uno y otro; si bien el método de Ritchie demostró una mayor positividad con respecto al de Faust (II).

Finalmente, este tipo de estudios tienen como objetivo orientar a los laboratorios clínicos para que estos proporcionen resultados confiables en el diagnóstico de las enfermedades e infecciones parasitarias.

MORFOLOGIA DE LAS FORMAS INFECTANTES.- De la gran variedad de parásitos que invaden al hombre, las especies de Protozoarios encontradas en la mayoría de los estudios corresponden a:

Entamoeba histolytica

Entamoeba coli

Endolimax nana

Iodamoeba bütschlii

Giardia lamblia

Las formas infectantes de E.histolytica son quistes redondos u ovoides, con una pared lisa y refringente que no se tiñe, miden de 5 a 20 micras de diámetro, su citoplasma contiene glucógeno y cuerpos cromatóides y por lo general contiene cuatro núcleos pequeños (12).

Al igual que E.histolytica, los quistes de E.coli son generalmente esféricos, aunque se han observado formas aberrantes (2). Miden en promedio 18 micras de diámetro y tienen una pared quística mucho más gruesa que la de E.histolytica. En los quistes maduros de E.coli se observan

barras cromatoideas y de cuatro a ocho núcleos los cuales se consideran una característica para su identificación y diferenciación con otros parásitos.

Por otro lado, E.nana se reconoce por sus quistes notablemente ovales, tienen de uno a cuatro núcleos que al teñirse con lugol aparecen como puntos discernibles rodeados por un halo claro, miden en promedio 9 micras de diámetro.

Así mismo, I.bütschlii es una amiba que se considera inofensiva, se observa en forma de quiste de aproximadamente 10 micras de diámetro que pueden presentarse en forma redonda, oval, elíptica o romboide. Tienen una masa de glucógeno bien definida que se tiñe de rojo con el yodo y un solo núcleo con cariosoma excéntrico (14).

Por otra parte, la forma infectante de G.lamblia es un quiste elipsoide de 9 a 12 micras de diámetro, de pared lisa y fácilmente identificable; contiene de dos a cuatro núcleos y algunas veces masas difusas de glucógeno. Los flagelos y axonemas se observan claramente cuando se tiñe con lugol (2).

Con respecto a los Helmintos, las especies más comunes son:

Trichuris trichiura

Ascaris lumbricoides

Hymenolepis nana

Estrongiloídes estercoralis

Las formas infectantes tienen la siguiente morfología: los huevecillos de T.trichiura tienen aspecto de limón con dos prominencias polares translúcidas semejantes a tapones, miden de 50 a 54 micras de largo por 22 a 24 de ancho, tienen una membrana vitelina interna y una cubierta amarillenta externa (3).

Así mismo, las formas infectantes de A.lumbricoides son huevos corticados y descorticados, los primeros son ovales o esféricos, con una cubierta gruesa translúcida formada por una membrana interna de naturaleza lipóide, una capa de glucógeno y una capa externa; dentro de estas tres capas se observa perfectamente el embrión. La diferencia con los huevos descorticados estriba en que estos carecen de la cubierta externa (2).

Por otra parte, los huevos de H.nana son de forma oval, miden 47 por 37 micras, poseen membranas que encierran un embrión hexacanto. La membrana interna tiene dos engrosamientos polares finos (3).

Finalmente, F.estercoalis se expulsa en las heces en forma de larva rabditoide no infectante que después de un corto período de tiempo se transforma a larva filariforme larga y delgada, de 700 micras de longitud que constituye la forma infectante. El esfago largo y la cola hendida son características diferenciales con otras larvas de nemátodos (3).

OBJETIVOS.-

OBJETIVO GENERAL:

Por todo lo anterior, en este estudio se comparan los métodos de flotación de Faust original, flotación de Faust modificado en el laboratorio de Análisis Clínicos con servicio al Público de la Facultad de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P., la observación directa en fresco de la materia fecal y el método de sedimentación de Ritchie.

OBJETIVO PARTICULAR:

Evaluar la eficiencia de cada método en la detección de formas parasitarias para un diagnóstico efectivo de las parasitosis intestinales.

MATERIAL Y METODOS.

MATERIAL.

A. REACTIVOS:

Sulfato de zinc al 33 % de densidad de 1.180 g/ml

Formaldehído al 10 %.

Fenol al 5 %.

Eter etílico.

Lugol parasitológico.

Conservador de pinol.

Conservador Vertiolate-yodo-formaldehído (KIF).

Agua destilada.

B. MATERIAL DE VIDRIO:

Embudos de 5 cc de diámetro.

Vasos de precipitado de 50, 100, 150 y 250 ml.

Tubos de ensaye de 13 X 100 mm.

Portaobjetos de 25 X 75 mm.

Cubreobjetos de 22 X 22 mm.

Pipetas graduadas de 5 y 10 ml.

C. APARATOS:

Microscopio binocular Rossbach Kvon. LSC-BLW.

Centrifuga con camisas para tubos 13 X 100 mm.

Densímetro graduado de 1.100 a 1.200 grados Baume.

D. OTROS:

Gasa cortada en cuadros de 10 X 10 cm.

Algodón absorbente cortado en cuadros de 10 X 10 cm.

Grádillas metálicas.

Abatelenguas de madera.

Aplicadores de madera.

Asa de micromel terminada en círculo de 2 a 3 mm de diámetro formando un ángulo recto con el resto del alambre.

PREPARACION DE REACTIVOS.

a) Reactivos para el método Directo.

1. Lugol parasitológico.

2. Agua destilada.

Preparación del lugol parasitológico.

Solución concentrada: Se disuelven 5 g de yoduro de potasio (Monterrey) en 100 ml de agua destilada, se agregan 5 g de yodo (Monterrey) agitando constantemente para disolver la mayor cantidad de yodo, se guarda la solución en un frasco ámbar. Se debe vaciar el exceso de yodo para que la solución permanezca con la concentración deseada el mayor tiempo posible.

Solución de trabajo: Se mezcla un volumen de la solución concentrada con un volumen de agua destilada y se guarda en un gotero ámbar (2).

b) Reactivos para los métodos de flotación de Faust.

1. Solución de sulfato de zinc de densidad 1.180 g/ml.
2. Lugol parasitológico.
3. Agua destilada.

Preparación de la solución de sulfato de zinc.

En un vaso de precipitado se disuelven 330 g de sulfato de zinc (Sigma grado técnico) en agua destilada hasta disolución total de la sal, se vacía en una probeta y se agrega agua destilada c.b.p. un litro, se mide la densidad, si ésta es superior a 1.180 g/ml se agrega agua destilada y si es inferior se agregan pequeñas cantidades de la sal hasta lograr la densidad deseada (2, 3).

c) Reactivos para el método de sedimentación de Ritchie.

1. Solución de formaldehído al 10%.
2. Eter etílico (Monterrey).
3. Lugol parasitológico.
4. Agua destilada.

Preparación de la solución de formaldehído al 10%.

En una probeta de 100 ml se disuelven 10 ml de formaldehído (Monterrey) con 90 ml de agua destilada agitando constantemente. Se almacena en un frasco ámbar.

d) Preparación de reactivos para soluciones conservadoras.

Solución conservadora de pinol. En una probeta de un litro se disuelven 1 ml de glicerina (Merck), 2 ml de alcohol caprílico (Backer), 10 ml de formaldehído (Monterrey) y 1 ml de pinol (Comercial) en una pequeña cantidad de agua destilada, se mezcla perfectamente y se afora a un litro con agua destilada.

Solución conservadora de Mertiolate-yodo-formaldehído (MIF). Solución A: Se mezclan 50 ml de agua destilada con 5 ml de formaldehído (Monterrey), 40 ml de timerosal (Lilly) y 1 ml de glicerina (Merck).

Solución B: Se disuelven 5 g de yoduro de potasio (Monterrey) en 100 ml de agua destilada, se agregan 5 g de yodo (Monterrey) agitando constantemente, se almacena en un frasco ámbar.

Solución desinfectante de fenol al 5 %. En un vaso de precipitado se disuelven 5 g de fenol (Monterrey) con una pequeña cantidad de agua destilada, se vacía en una probeta y se afora a 100 ml.

OBTENCION DE MUESTRAS.

Las muestras analizadas en este estudio se obtuvieron del laboratorio de Análisis Clínicos con servicio al Público de la Facultad de Ciencias Químicas de la U.A.S.L.P., del Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" así como del laboratorio de Parasitología de dicha Facultad.

Los conservadores utilizados para evitar la deformación de quistes de Protozoarios y prevenir el ulterior desarrollo de huevos y larvas de Helminths fueron Merthiolate-yodo-formaldehído (MIF) y conservador de pinol.

Las muestras procedentes del laboratorio de Análisis Clínicos contenían conservador MIF y las muestras del Hospital Central y del Laboratorio de Parasitología conservador de pinol.

En un examen coproparasitoscópico de rutina, se recomienda la observación de tres muestras fecales de un mismo paciente para asegurar la detección de organismos parasitarios que se expulsan intermitentemente y en número variable, cabe señalar que para este estudio se examinó solo una muestra por paciente.

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Químicas y en los resultados obtenidos se investigó el grado de positividad y la efectividad de los métodos seleccionados en la detección de quistes de Protozoarios, huevos y larvas de Helminths.

DESCRIPCION DE METODOS.

METODO DIRECTO.

La materia fecal se emulsiona con agua destilada utilizando un abatelenguas de madera; en un portaobjetos se coloca una gota de lugol y una gota de la emulsión de heces, se cubre la preparación y se observa al microscopio con objetivos 10X y 40X recorriendo toda el área del cubreobjetos siguiendo un movimiento de acordeón.

METODO DE PLOTACION POR CENTRIFUGACION DE FAUST ORIGINAL.

1. Se hace una suspensión homogénea de la materia fecal con agua destilada.
2. Se pasa a través de una gasa colocada en un embudo recolectando la suspensión en un tubo de ensaye. Se centrifuga un minuto a 2 500 r.p.m.
3. Se decanta el sobrenadante y se resuspende el sedimento con agua agitando con un aplicador de madera.
4. Se centrifuga nuevamente y se decanta el sobrenadante.
5. Se agregan 2 o 3 ml de la solución de sulfato de zinc de densidad 1.190 g/ml a los tubos y se homogeniza perfectamente llenando los tubos hasta un centímetro por debajo de los bordes.
6. Se centrifuga nuevamente un minuto a 2 500 r.p.m.
7. Con un asa limpia se recoge la muestra de la película superficial que se encuentra en el menisco por dos o tres ocasiones sucesivas y se mezcla con una gota de lugol en un portaobjetos.

8. Se coloca el cubreobjetos y se observa la preparación en el microscopio con objetivos 10X y 40X siguiendo un movimiento de acordeón.

METODO DE FLDTACION POR CENTRIFUGACION DE FAUST MODIFICADO.

1. Se hace una suspensión homogénea de la materia fecal con agua destilada.
2. Se filtra la suspensión a través de una capa de algodón colocada en el embudo, recolectando la suspensión en un tubo de ensaye. Se centrifuga 5 minutos a 2 500 r.p.m.
3. Se decanta el sobrenadante y se agrega el sedimento 1 ml de la solución de sulfato de zinc de densidad 1.180 g/ml.
4. Se agita el tubo de ensaye sobre una grédilla metálica para homogenizar todo el sedimento con la sal.
5. Se agrega sulfato de zinc hasta un centímetro por debajo de los bordes del tubo.
6. Se centrifuga un minuto a 1 500 r.p.m.
7. Con un asa limpia se recoge la muestra de la película superficial que se encuentra en el menisco durante dos o tres ocasiones sucesivas y se mezcla con una gota de lugol en un portaobjetos.
8. Se coloca el cubreobjetos y se observa al microscopio con objetivos 10X y 40X.

METODO DE SEDIMENTACION DE RITCHIE.

1. Se homogeniza perfectamente la materia fecal y se filtra a través de una gasa recogiendo el filtrado en un tubo de ensaye.
2. Se centrifuga durante un minuto y medio a 2 500 r.p.m., se decanta y resuspende las veces que sean necesarias con agua destilada hasta obtener un sobrenadante claro.
3. Después de decantar el último líquido de lavado, se añade al tubo 1 ml de formaldehído al 10 %, 3 ml de éter etílico y se completa el volumen con agua destilada hasta un centímetro por debajo de los bordes del tubo.
4. Se agita vigorosamente durante 30 segundos y se centrifuga a 2 500 r.p.m. durante un minuto y medio. Se forman cuatro capas; de arriba hacia abajo corresponden a éter, tapón de desechos, formol y sedimento.
5. Se decantan las tres primeras capas liberando con un aplicador de madera los desechos superficiales.
6. Se colocan unas gotas del sedimento en el portaobjetos, se mezcla con una gota de lugol y se cubre la preparación con cubreobjetos de vidrio.
7. Se observa al microscopio con objetivos 10X y 40X siguiendo un movimiento de acordeón.

RESULTADOS.

Se estudiaron un total de 400 muestras de materia fecal utilizando los cuatro métodos coproparasitológicos, de las cuales en 137 se detectaron formas parasitarias, dando un promedio de 34.3 % de positividad.

En la Tabla No. 1 se indica el grado de positividad de las muestras analizadas por cada método. Se encontró que la técnica de sedimentación de Ritchie detecta el mayor número de casos positivos (105); en los métodos original y modificado de Faust se obtuvieron un número de muestras positivas similares (99 y 98, respectivamente) y por el método Directo se detectó la mínima parte (84). Tomando en cuenta el total de las muestras analizadas, se obtuvo una positividad de 26.2 % por el método de Ritchie, 24.7 % y 24.5 % por los métodos de Faust original y modificado respectivamente y 21.0 % por el método Directo.

La Tabla No. 2 nos muestra los resultados obtenidos al comparar la efectividad de los métodos estudiados; en base a las 137 muestras positivas, se encontró que el método de Ritchie es más efectivo (76.6 %) que los métodos de Faust original (72.2 %) y modificado (71.5 %) y que a su vez estos tienen grandes ventajas sobre el método Directo (61.3 %) en la detección de formas parasitarias.

Las asociaciones entre parásitos observadas con mayor frecuencia se citan en la Tabla No. 3. Los métodos de concentración no muestran diferencias significativas en la

detección de E.coli asociada con E.histolytica y ninguna diferencia en la asociación E.coli-G.lambliia, en ambos casos el método Directo detecta muy pocos casos positivos. En la asociación E.coli-I.bütschlii, se encontró que de las 6 muestras positivas, 4 se detectaron por el método de Ritchie (66.6 %), 3 por el método de Faust modificado (50.0 %) y 2 por los métodos de Faust original y Directo (33.3 %).

La Tabla No. 4 expresa la efectividad de los cuatro métodos en la detección de Protozoarios intestinales. Se obtuvieron 119 muestras positivas para quistes de Protozoarios, de estas se detectaron 93 y 92 por los métodos de Faust original y modificado respectivamente; el método de Ritchie detectó 91 muestras positivas y por el método Directo se observaron solo 73 muestras con estas formas parasitarias.

En la Tabla No. 5 se indica la efectividad de los métodos estudiados en la detección de diversas especies de Protozoarios. Se encontró que los tres métodos de concentración estudiados son notablemente más efectivos que el método Directo en la detección de E.coli y E.histolytica. Por otra parte, en la detección de E.nana los métodos de Ritchie y Directo mostraron mayor efectividad que los métodos de flotación. En la detección de I.bütschlii y G.lambliia los cuatro métodos no mostraron diferencias significativas entre sí.

La efectividad de los métodos para la detección de Helminthos se muestra en la Tabla No. 6. Se encontraron

22 muestras positivas (asociados o no con Protozoarios o con otras especies de Helmintos); de este grupo se detectaron 16 muestras por el método de Ritchie (72.2 %), 12 por el método Directo (54.5 %), 9 por el método de Faust original (40.9 %) y 6 por el método de Faust modificado (27.2 %).

La efectividad de los métodos en la detección de huevos y larvas de Helmintos se indica en la Tabla No. 7. Las especies de Helmintos encontradas fueron T.trichiura, detectada en gran parte por el método de Ritchie (36.3 %), A.lubricoides observada en la misma proporción por los métodos Directo y Ritchie (27.2 %), H.nana encontrada con mayor frecuencia por el método de Faust original (22.7 %) y larvas de E.estercoalis detectadas por los métodos Directo y Ritchie.

En el Cuadro No. I se indican las asociaciones entre parásitos observadas por cada uno de los métodos estudiados. Se encontró que el método de Ritchie es más efectivo en la detección de una o varias formas parasitarias (73.1 %), así mismo, se observó que los métodos de flotación de Faust son igualmente efectivos (43.9 %) y que el método Directo detecta solo una parte (24.3 %) de los parásitos que integran la asociación.

TABLA No. I.

GRADO DE POSITIVIDAD DE CUATRO METODOS
COPROPARASITOSCOPICOS EN LA DETECCION
DE FORMAS PARASITARIAS.

Método	Muestras positivas	%
Directo	84	21.0
Faust modificado	98	24.5
Faust original	99	24.7
Ritchie	105	26.2

Los porcentajes fueron calculados en relación
a 400 muestras fecales analizadas.

TABLA No. 2.

EFFECTIVIDAD DE CUATRO METODOS COPROPARASITOSCOPICOS
EN EL DIAGNOSTICO DE LAS PARASITOSIS INTESTINALES.

Método	Muestras positivas	%
Directo	84	61.3
Faust modificado	98	71.5
Faust original	99	72.2
Ritchie	105	76.6

Los porcentajes fueron calculados en relación a 137 muestras positivas para parásitos.

TABLA No. 3.

ASOCIACIONES MAS FRECUENTES ENTRE PARASITOS.

Método	Asociación					
	E.coli I.butschlii		E.coli E.histolytica		E.coli G.lambliia	
	a/b	%	a/b	%	a/b	%
Directo	2/6	(33.3)	5/14	(35.7)	2/6	(33.3)
Faust original	2/6	(33.3)	9/14	(64.2)	4/6	(66.6)
Faust modificado	3/6	(50.0)	10/14	(71.4)	4/6	(66.6)
Ritchie	4/6	(66.6)	11/14	(78.5)	4/6	(66.6)

Los resultados fueron indicados de la siguiente manera: (a) el número de asociaciones por cada método.
 (b) el número de asociaciones por uno u otro método.

TABLA No. 4.

EFFECTIVIDAD DE CUATRO METODOS COPROPARASITOSCOPICOS
EN LA DETECCION DE PROTOZOARIOS INTESTINALES.

Método	Muestras positivas	%
Directo	73	61.3
Ritchie	91	76.5
Faust modificado	92	77.3
Faust original	93	78.1

Los porcentajes fueron calculados en relación
a 119 muestras positivas para quistes de Protozoarios.

TABLA No. 5.

EFFECTIVIDAD DE CUATRO METODOS COPROPARASITOSCOPICOS
EN LA DETECCION DE DIFERENTES ESPECIES DE PROTOZOARIOS .

Método	Protozoarios				
	Entamoeba coli	Entamoeba histolytica	Endolimax nana	Iodamoeba butschlii	Giardia lamblia
	%	%	%		
Directo	41(34.4)	19(15.4)	9(7.5)	3(2.5)	11(9.2)
Faust original	63(52.3)	28(23.5)	7(5.8)	4(3.4)	10(8.4)
Faust modificado	59(49.6)	29(24.4)	6(5.0)	5(4.2)	14(11.2)
Ritchie	62(52.1)	22(18.5)	16(13.4)	4(3.4)	12(10.1)

Los resultados fueron expresados como : el número de muestras positivas de cada una de las especies de Protozoarios detectadas. Los porcentajes se calcularon en relación a 119 muestras positivas para quistes de Protozoarios.

TABLA No. 6.

EFFECTIVIDAD DE CUATRO METODOS COPROPARASITOSCOPICOS
EN LA DETECCION DE HELMINTOS.

Método	Muestras positivas	%
Faust modificado	6	27.2
Faust original	9	40.9
Directo	12	54.5
Ritchie	16	72.7

Los porcentajes fueron calculados en relación a 22 muestras positivas para Helminetos.

10

TARLA No. 7.

EFFECTIVIDAD DE CUATRO METODOS COPROPARASITOSCOPIOS
EN LA DETECCION DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE HELMINTOS.

Método	Helmintos			
	Trichuris trichiura	Ascaris lumbricoides	Hymenolepis nana	Larvas sp y E. estercoralis
	%	%	%	%
Directo	1(4.5)	6(27.2)	3(13.6)	2(9.0)
Faust original	1(4.5)	2(9.0)	5(22.7)	1(4.5)
Faust modificado	2(9.0)	2(9.0)	2(9.0)	0 -
Ritchie	8(36.3)	6(27.2)	4(18.1)	2(9.0)

Los resultados fueron expresados como el número de muestras positivas de cada una de las especies de Helmintos detectadas. Los porcentajes fueron calculados en relación a 22 muestras positivas para huevos y larvas de Helmintos.

CUADRO No. I.

ASOCIACIONES ENTRE PARASITOS DETECTADOS POR
CUATRO METODOS COPROPARASITOSCOPICOS.

Asociación	Método			
	Directo	Faust original	Faust modificado	Ritchie
	%	%	%	%
E.coli-I.butschlii	2(4.8)	2(4.8)	3(7.3)	4(9.7)
E.coli-E.histolytica	5(12.1)	9(21.9)	10(24.3)	11(26.8)
E.coli-G.lamblia	2(4.8)	4(9.7)	4(9.7)	4(9.7)
E.coli-E.nana	1(2.4)	1(2.4)	1(2.4)	2(4.8)
E.coli-H.nana	0(-)	1(2.4)	0(-)	0(-)
E.coli-E.histolytica-E.nana	0(-)	0(-)	0(-)	1(2.4)
E.coli-E.histolytica-E.nana-G.lam.	0(-)	0(-)	0(-)	0(-)
E.coli-I.butschlii-A.lumb.	0(-)	0(-)	0(-)	1(2.4)
E.coli-H.nana-A.lumbricoides	0(-)	0(-)	0(-)	0(-)
H.nana-T.trichiura	0(-)	0(-)	0(-)	1(2.4)
A.lumbricoides-T.trichiura	0(-)	0(-)	0(-)	2(4.8)
E.nana-E.histolytica	0(-)	1(2.4)	0(-)	1(2.4)
E.nana-G.lamblia	0(-)	0(-)	0(-)	2(4.8)
E.nana-T.trichiura	0(-)	0(-)	0(-)	1(2.4)
TOTAL	10(24.3)	18(43.9)	18(43.9)	30(73.1)

Los resultados fueron expresados como: el número de asociaciones detectadas por cada método y (-) asociaciones no detectadas. Los porcentajes fueron calculados en relación a 41 asociaciones totales.

DISCUSION.

De la gran variedad de métodos empleados en el diagnóstico de las parasitosis intestinales, se seleccionaron y estandarizaron cuatro de ellos para evaluar su efectividad. Esto se considero necesario debido a las diferencias encontradas en las técnicas de un texto a otro, los parámetros estandarizados fueron el tiempo y la velocidad de centrifugación, cabe señalar que esto se efectuó sólo en los métodos de Faust original y de Ritchie.

En las muestras analizadas se encontró una gran proporción de muestras negativas (65.5 %) y se sugiere que esto se debe a que la materia fecal recolectada era de un solo día y en estas condiciones hay menos probabilidad de detectar la totalidad de las infecciones (IO).

Por otra parte, se observó que de las 137 muestras con parásitos, sólo 51 se detectaron por los cuatro métodos, esto confirma lo expresado por Salazar P.M. en 1980 y por Garrocho S.C. en 1976 acerca de que no todos los métodos coproparasitológicos son igualmente efectivos en la detección de formas parasitarias.

Se encontró que comparando los métodos de acuerdo a su efectividad en la detección de parásitos se observó que el método de Ritchie se obtiene una mayor positividad en las muestras analizadas (76.6 %). Por los métodos de Faust original y modificado se observaron resultados muy similares

(72.2 % y 71.5 % respectivamente), la diferencia entre estos dos métodos fué solo de una muestra no detectada por el método modificado. Así mismo, se observó que empleando el método Directo se descubren muy pocas (61.3 %) formas infectantes.

En la detección de Protozoarios intestinales, por los métodos de Faust original y modificado no se observaron diferencias significativas. De acuerdo con los resultados obtenidos, se piensa que el grado de pureza de las preparaciones microscópicas que proporcionan las técnicas de flotación favorecen la detección de los quistes de Protozoarios por estos métodos y que por la presencia de artefactos presentes en los métodos Directo y Ritchie no se observan fácilmente.

Al evaluar los métodos en base a la efectividad para detectar las diferentes especies de Protozoarios, se encontró que los procedimientos de concentración no muestran grandes diferencias en la identificación de E.coli y de I.bütschlii; en cambio, por el método Directo se observaron muy pocos casos positivos. En la detección de G.lambliia la mayoría de las infecciones se detectaron por los cuatro métodos; sin embargo, en la detección de E.histolytica, los dos métodos de flotación mostraron mayor efectividad y en la detección de E.nana por los métodos Directo y Ritchie se obtuvo una mayor proporción de casos positivos.

En cuanto al aspecto y número de quistes, se encontró que el método de Faust original ofrece preparaciones óptimas para la detección de estas formas parasitarias, lo cual

resulta satisfactorio cuando no se cuenta con mucha experiencia en la observación microscópica; también se observó que por el método de Ritchie se concentran demasiados artefactos que dificultan la identificación de parásitos; sin embargo, el aspecto y número de quistes de Protozoarios encontrados fué semejante a los detectados por el método de Faust original. En el método de Faust modificado, los quistes de Protozoarios se detectaron con deformaciones morfológicas y se cree que esto se debe al trato brusco al que son sometidos durante la agitación, aún así, la efectividad de este método en la detección de las diferentes especies de Protozoarios fué semejante a la encontrada usando los métodos de Faust original y Ritchie.

Con respecto a la detección de Helmintos, se encontró que de las 22 muestras positivas el método de sedimentación proporciona la mayor parte de los casos positivos (72.7 %), de una manera notable se observó que de las muestras con Helmintos no detectadas por este método, la mayor parte corresponden a H.nana y que en los casos en donde sí se detectó el número de huevecillos era muy escaso; por el contrario, en los métodos de flotación, estas formas parasitarias se observaron claramente y en cantidades apreciables, se sugiere que las concentraciones de formol y éter empleadas en el método de Ritchie dificultan la detección de H.nana o que tal vez por el tamaño y peso de este parásito, no se llega a concentrar en el sedimento.

En las asociaciones observadas entre Protozoarios y Helmintos se encontró que los dos métodos de flotación y el método Directo detectan en la mayoría de los casos sólo las especies de Protozoarios; esta situación representa un gran riesgo para los laboratorios que como único método utilicen el de flotación de Faust o el Directo en el diagnóstico de las parasitosis intestinales.

CONCLUSIONES.

Se evaluó la efectividad de cuatro métodos coproparasitológicos para detectar formas parasitarias y se encontró que ninguno de los cuatro métodos es 100 % efectivo en la detección de parásitos. El método de Ritchie es eficaz en la detección tanto de Protozoarios como de Helminos mientras que utilizando los métodos de flotación en la mayoría de los casos no se llegan a detectar huevecillos pesados de Helminos. El conocimiento y adiestramiento adecuado del personal para identificar las distintas formas parasitarias es un punto crucial para cualquier método.

Se encontró que los métodos de Faust original y modificado son igualmente efectivos en la detección de Protozoarios intestinales. La modificación propuesta al método de flotación de Faust desarrollada desde 1976 por el laboratorio de Análisis Clínicos con servicio al Público de la Facultad de Ciencias Químicas mejora la efectividad del método original.

El método de Ritchie es más efectivo que los métodos de flotación en la detección de formas infectantes de Helminos.

El método Directo es menos eficiente en la detección de formas parasitarias con respecto a los métodos de concentración estudiados; sin embargo, sobresalen algunas de

sus características, tales como la rapidez en la obtención de los resultados y la economía en los reactivos utilizados.

El emplear como único recurso el método Directo en la búsqueda de parásitos, no proporciona resultados confiables, por lo que se recomienda su uso solo como complemento cuando en el diagnóstico se emplee una técnica de concentración.

Por todo lo anterior, se puede concluir que el método de Ritchie es más efectivo en la detección de las diversas formas parasitarias con respecto a los métodos de flotación de Faust original y modificado, y que a su vez estos tres métodos de concentración tienen mayor efectividad que la observación directa de la materia fecal.

Se propone, que de la gran diversidad de métodos coproparasitológicos los laboratorios clínicos utilicen una técnica de flotación y una de sedimentación simultáneamente para así obtener resultados más confiables en el diagnóstico de las infecciones y enfermedades parasitarias.

BIBLIOGRAFIA.

1. Shore G.A., 1980. Diagnóstico Parasitológico, Editorial Panamericana.
2. Salazar P.M., De Haro A.I., 1980. Manual de técnicas para el diagnóstico morfológico de las parasitosis.
3. Brown F.W., 1986. Parasitología Clínica, 5a ed. México, Editorial Interamericana.
4. Soberon G.P., 1964. Parasitología Médica y Patología tropical, 1a ed. México, Librería de Medicina.
5. Biagi F., 1980. Enfermedades Parasitarias, 4a ed. México, La Prensa Médica Mexicana.
6. Brumpt L. and Brumpt V., 1969. Parasitología Práctica, 1a ed. Barcelona, Impreso por Gráficas Tricolor.
7. Castilho V.L., Nov-Dec, 1980. Comparative study of Faust et al and Ritchie methods for Parasitological examinations of feces. Rev.Inst. Med. Trop. Sao Paulo, Brasil. Vol 22, ps 319-322.
8. Palmer M.D., Aug 1985. Diagnostic imaging in Parasitic Infections. Pediatric Clinics of North America. Vol 32, ps 1019-1022.

9. Craig y Faust, 1976. Parasitología Clínica, Editorial Salvat.
10. Peter S.C., Hernández L.C., Sheffierd A.L., Focka F.E. and Chittom-Swiatlo A.L., Aug 1988. Cost Containment of Formalin-Preserved Stool Specimens for Ova and Parasites from Outpatients. Journal of Clinical Microbiology. Vol 26, No.8, ps 1584-1585.
11. Garrocho S.C. and Torres R.A., 1976 .Diagnosis of Intestinal Parasitic Infestation. Study of two Methods for Collection of Specimens. Departaments of Microbiology and Preventive Medicine University of San Luis Potosí Medical School. Journal of Clinical Microbiology Vol 67, No.6, ps 603-605.
12. Todd Sanford, Davidsohn, 1971, Métodos de laboratorio para el diagnóstico de las Parasitosis Intestinales, 1a ed, México, Editorial Interamericana.
14. Becke J.W., Davies J.E., 1983. Parasitología Clínica, 3a ed. México, Editorial Interamericana.
15. Carroll M.J., 1985. Routine Procedures For Examination of Stool and Blood for Parasites, Pediatric Clinics of North America. Vol 32, No.4, ps 1041-1045.

