

302227

25.



UNIVERSIDAD MOTOLINIA, A. C.

ESCUELA DE QUIMICA
 CON ESTUDIOS INCORPORADOS A LA
 UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LOS METODOS
 DE FLOTACION EN EXAMENES
 COPROPARASITOSCOPICOS.

T E S I S
 QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
 P R E S E N T A :
BEATRIZ ELENA CAMARENA MEDELLIN

MEXICO, D. F.

1994

**TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A G R A D E C I M I E N T O .

El presente trabajo fue realizado en las instalaciones de la Unidad de Pediatría del Hospital General de México; sirvan estas líneas para expresar mi agradecimiento en especial al Dr. Raúl Romero Cabello por las facilidades y apoyo para la finalización del mismo.

DEDICATORIAS .

A MIS PADRES.

Por su gran sacrificio y
esfuerzo para lograr mi
superación profesional y
como una muestra del
gran cariño que les ten-
go.

A MIS HERMANOS.

Jaime, Ignacio y Daniel,
por su apoyo y comprensión.

A MIS AMIGOS.

Por su afecto y estímulo
para seguir adelante.

A LA UNIVERSIDAD MOTOLINIA.

Por la formación profesional
que recibí.

Agradezco al Doctor en Bioquímica Benjamin Noguera Torres, a la QFB Dulce María Robles Denetro y al Dr. Carlos Cruz F., por la revisión y sus valiosas sugerencias en la corrección del manuscrito.

I N D I C E

| | PAGINA. |
|---|---------|
| CAPITULO I INTRODUCCION. | |
| 1.1 Planteamiento del problema. | 1 |
| 1.2 Objetivo. | 1 |
| 1.3 Hipótesis. | 2 |
| | |
| CAPITULO II ANTECEDENTES. | |
| 2.1 Las parasitosis intestinales. | 3 |
| 2.2 Diagnóstico de laboratorio. | 5 |
| 2.3 Los estudios coproparasitológicos. | 6 |
| 2.4 Los coproparasitológicos de concentración por flotación. | 9 |
| 2.4.1 Método de flotación de Willis (1921). | 10 |
| 2.4.2 Centrifugación flotación directa (1924). | 11 |
| 2.4.3 Centrifugación flotación con sulfato de cinc de Faust y colaboradores (1938). | 12 |
| 2.4.4 Método de concentración por centrifugación flotación de Ferreira. | 14 |
| 2.4.5 Tubo de plástico en técnicas de flotación. Armando Bayona-González. | 16 |

| | | |
|--------|--|----|
| 2.4.6 | Técnica de Bass por flotación con salmuera, modificación de la técnica de Willis. | 17 |
| 2.4.7 | Técnica de Faust modificada. | 18 |
| 2.4.8 | Modificación a la técnica de Faust. | 19 |
| 2.4.9 | Tinción con hematoxilina de una preparación de material flotante obtenido por la técnica de Faust. | 19 |
| 2.4.10 | Técnica de centrifugación flotación con salmuera. | 20 |
| 2.4.11 | Modificación a la técnica de flotación con sulfato de cinc usando muestras de heces formolizadas. | 21 |
| 2.4.12 | Técnica de flotación con una solución acetoforno azucarada. | 22 |
| 2.4.13 | Examen coproparasitoscópico de flotación con solución de sacarosa. | 22 |

CAPITULO III PARTE EXPERIMENTAL.

| | | |
|-------|-------------------------------|----|
| 3.1 | Diagrama experimental. | 24 |
| 3.2 | Material, reactivos y equipo. | 25 |
| 3.2.1 | Material biológico. | 25 |
| 3.2.2 | Material de laboratorio. | 25 |
| 3.2.3 | Reactivos. | 26 |
| 3.2.4 | Equipo. | 26 |
| 3.2.5 | Preparación de reactivos. | 26 |

| | | |
|-------------------------------------|--------------------------|----|
| 3.3 | Metodología. | 28 |
| 3.4 | Desarrollo experimental. | 30 |
| CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION. | | |
| 4.1 | Resultados. | 31 |
| 4.2 | Discusión. | 42 |
| CAPITULO V CONCLUSIONES. | | 45 |
| BIBLIOGRAFIA. | | 47 |

CAPITULO I

INTRODUCCION.

I N T R O D U C C I O N .

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los estudios coproparasitológicos son un procedimiento habitual para el diagnóstico de las parasitosis intestinales. En la actualidad existen diversas técnicas parasitológicas, las cuales utilizan productos y estrategias diferentes para aumentar el valor diagnóstico de las pruebas. Las técnicas por concentración son metodologías frecuentemente utilizadas dado que aumentan la probabilidad de observar a las formas parasitarias presentes en la muestra. La concentración de las formas parasitarias se realiza ya sea por sedimentación o por flotación de los quistes o huevecillos presentes. Las técnicas por flotación han sido evaluadas utilizando distintas densidades, así como las sustancias a utilizar con el fin de lograr las densidades óptimas para la flotación de las estructuras parasitarias (21).

1.2 OBJETIVO.

Dado que hasta la fecha no hay un examen coproparasitológico ideal, será motivo de inquietud y de investigación, el determinar cual es el método más sencillo, más rápido, más barato y con mayor valor diagnóstico. En ese afán y como problema a resolver en el presente trabajo se plantea cuál es la diferencia en cuanto a eficacia diagnóstica, de un método de concentración por centrifugación-flotación, cuando se utiliza un dispositivo

plástico, como modificación a la técnica original de Faust, y diferenciado del método coproparasitoscópico cuantitativo de Ferreira, ya que el dispositivo está rediseñado para uso en los tubos de ensayo de 13 x 100 mm. El método a evaluar concentrará una mayor cantidad de producto y por lo tanto aumentará la probabilidad de observar las formas parasitarias del método propuesto por Faust, el cual es el más comúnmente utilizado en la mayoría de los laboratorios de análisis clínicos.

1.3 HIPOTESIS.

Se piensa que el dispositivo de concentración aísla una mayor cantidad de producto que el procedimiento tradicionalmente utilizado, además el utilizar sustancias más baratas como el cloruro de sodio (NaCl) y azúcar común, las cuales deben resultar eficaces a densidades iguales o mayores a las del sulfato de cinc, además de existir la posibilidad de que a altas densidades de las sustancias a probar originen menos deformaciones a los quistes y huevecillos.

CAPITULO II

ANTECEDENTES.

A N T E C E D E N T E S

2.1 LAS PARASITOSIS INTESTINALES.

Los parásitos desde los remotos tiempos en la historia del hombre y hasta la fecha siguen siendo un problema de Salud Pública Mundial. La infección con parásitos es muy frecuente, en algunos casos provocan enfermedad, incluso la muerte. Además de su alta frecuencia las parasitosis radican su importancia en:

- a) por el daño que causan a la salud
- b) las implicaciones socioeconómicas que revisten
- c) la necesidad de capacitación y adiestramiento requeridos para un manejo adecuado de estos padecimientos y
- d) por su carácter transmisible, que las hace susceptibles de control o erradicación (18).

Entre las parasitosis más importantes se tienen a la ascariasis, uncinariasis, tricocefalosis, amibiiasis y giardiasis; las cuales están consideradas dentro de las 10 enfermedades infecciosas de mayor prevalencia mundial (21). En nuestro país, las helmintiasis intestinales afectan gran parte de la población en las zonas tropicales y templadas (26) y las amibiiasis se considera como uno de los problemas de salud más lacerantes del pueblo mexicano (16,17).

De la frecuencia como enfermedad, se conocen algunos reportes, como los publicados por el Instituto Mexicano del Seguro Social, en los que se aprecia que las parasitosis representan un problema que

frecuentemente requiere atención médica (9).

Como causa de muerte, las enfermedades parasitarias también juegan un papel sobresaliente; así lo muestran los reportes del Hospital General de México, en los que la amibiasis y la cisticercosis ocupan el 4o. y 12o. lugar, respectivamente, en los estudios postmortem (19).

En la actualidad se cuenta con diversos exámenes de laboratorio y gabinete para el estudio del paciente con sospecha de enfermedad parasitaria; técnicas parasitoscópicas, inmunológicas, coproparasitoscópicas y especiales, que para que rindan resultados óptimos, requieren ser indicadas y manejadas con un conocimiento específico de su utilidad, realización, interpretación y limitaciones. Obviamente el empleo atinado de todos estos recursos permite el diagnóstico de un mayor número de casos y con ello la atención eficaz del paciente, lo cual ha sido siempre motivo de estudio, ya que se estima que en 1979 en el mundo había 1000 millones de personas infectadas por Ascaris lumbricoides, 900 por uncinarias, 500 por Trichuris trichiura, 400 por Entamoeba histolytica y 200 por Giardia lamblia principalmente (21).

Un gran número de infecciones parasitarias son asintomáticas o de leve y velada sintomatología, sobre todo cuando la carga parasitaria es escasa; sin embargo, existen riesgos importantes de complicaciones, como por ejemplo procesos apendiculares inflamatorios provocados por Enterovirus vermicularis, obstrucción y perforación en ascariasis, problemas que pudieran ser resueltos

sin procedimientos quirúrgicos, con manejo previo adecuado de la parasitosis (24,27).

Las enfermedades parasitarias ocurren con muchísima mayor frecuencia en el núcleo de población más pobre, carentes de recursos materiales, higiénicos, educacionales, etc., reforzando el círculo vicioso, miseria-enfermedad. Por algo se ha dicho que las enfermedades parasitarias son "el cáncer de los países en vías de desarrollo" y "los problemas olvidados de la gente olvidada" (21).

Por el carácter transmisible de las enfermedades parasitarias y sus mecanismos de infección ligados a deficiencias en la higiene individual y colectiva, es factible que estos padecimientos sean susceptibles de control o erradicación, mediante aplicación de medidas médico sanitarias, económicas y educacionales; esto se ha logrado ya en algunos países, para paludismo, protozoosis y helmintiasis intestinales principalmente (20).

2.2 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

Los conocimientos de parasitología médica encuentran su aplicación más común en la realización de exámenes de laboratorio con el propósito de contribuir al diagnóstico de las enfermedades que se sospecha sean de naturaleza parasitaria. El principal elemento para ser confiable el diagnóstico de dichas enfermedades, es el hallazgo de los parásitos causales, el cual es posible y aún fácil en la mayoría de los casos, pudiéndose dificultar en determinadas circunstancias. Para poder identificar correctamente

a los parásitos que invaden el organismo humano, es menester poseer ciertos conocimientos acerca de la morfología y de la biología de aquellas especies que más comúnmente parasitan al hombre, procurarse muestras adecuadas y preparadas para el examen parasitoscópico, además de aplicar debidamente los métodos de laboratorio indicados en cada caso para la búsqueda y demostración de los parásitos, obviamente el empleo atinado de estos recursos permite el diagnóstico de un mayor número de casos y con ello la atención eficaz del paciente. Sin embargo, en ocasiones por falta de sospecha clínica o error de laboratorio, estas enfermedades no se diagnostican, o se tratan como un padecimiento diferente, debido a que presentan sintomatología variada y compleja, que fácilmente puede confundirse con otras entidades clínicas. Debido a ésto, la utilización de mejores métodos de diagnóstico en el laboratorio es de gran trascendencia para lograr un mayor número de diagnósticos acertados y oportunos, para establecer tratamientos terapéuticos adecuados, y de esta inquietud se puede entender fácilmente el por qué a lo largo del tiempo se han hecho varias modificaciones a los métodos ya establecidos, y aún a las propias modificaciones, con el fin de obtener resultados más confiables y seguros (1,11).

2.3 LOS ESTUDIOS COPROPARASITOSCOPICOS.

En el laboratorio de análisis clínicos, se utilizan métodos para la búsqueda de formas parasitarias en productos biológicos del

paciente en estudio, procedimientos que reciben el nombre de métodos parasitológicos; cuando el producto en estudio es materia fecal, se denominan coproparasitológicos, donde se buscan algunas de las fases de los parásitos, como son trofozoítos, quistes, larvas, huevos y adultos (5).

Las muestras sometidas a examen deben ser recién obtenidas, no contaminadas, examinadas de inmediato o preservadas adecuadamente, para asegurar que no se modifiquen sus características morfológicas. La toma se hará en un recipiente limpio, sin combinaciones con la orina del paciente, y es esencial que el material remitido para examen sea suficiente para hacer un buen estudio. El estudio macroscópico de la muestra debe preceder siempre al estudio microscópico (15).

El examen directo macroscópico es el más sencillo y es habitual que se realice sin necesidad de algún procedimiento especial, pues en ocasiones el paciente elimina por vía digestiva parásitos que se pueden visualizar por ser relativamente grandes, si se conocen, se identifican fácilmente; por ejemplo la presencia en materia fecal de adultos de Ascaris lumbricoides, Enterobius vermicularis, Trichuris trichiura, proglótidos de Taenia sp., etc. (1).

El estudio directo microscópico consiste en tomar la muestra y hacer su observación al microscopio, pues existen parásitos o sus formas evolutivas, que son muy pequeños (trofozoítos y quistes de protozoarios, huevos y larvas de helmintos) (14,20).

En algunos helmintos como Taenia, a menudo es difícil su diagnóstico por medio de los métodos comunes de sedimentación o

flotación para la concentración de los huevos, por lo que se utiliza el método de tamizado, el cual tiene como fin la recuperación de parásitos o segmentos de los mismos (proglótidos) (1).

En cuanto a los exámenes por concentración, muchas veces en la muestra por estudiar, la cantidad de estructuras parasitarias es muy escasa para poder detectarlas, por lo que se tiene que llevar a cabo este procedimiento con el objeto de que se concentren en la superficie de una fase líquida (centrifugación y flotación: Faust), por flotación (Willis), o en el sedimento (por sedimentación: Ritchie), y de allí se toma la muestra para hacer la observación microscópica (11).

En algunas helmintiasis (ascariasis, tricocefalosis, uncinariasis, strongiloidiasis e himenolepiasis) es factible saber de manera aproximada el grado de infección, lo cual se lleva a cabo por medio de los exámenes cuantitativos y de esta forma correlacionar las manifestaciones clínicas con una probable parasitosis o que sean debidas a otra entidad etiológica; por ejemplo, no necesariamente el hecho de encontrar datos de anemia en un individuo y huevos de uncinaria en un examen cualitativo, se deberá atribuir la uncinariasis como causa definitiva, ya que existe la posibilidad de tener escasos helmintos que no sean capaces siquiera de producir sintomatología y esta infección seguramente esta asociada a otro problema; así mismo, este tipo de exámenes son útiles para valorar la respuesta al tratamiento antihelmíntico.

Los exámenes cuantitativos pueden ser por concentración (Ferreira), por dilución (Stoll) o frotis (Kato-Katz) (1,15).

Algunos parásitos, por su localización y por las características de su ciclo biológico, no se pueden detectar en ocasiones en materia fecal, por lo que se tiene que estudiar en estos casos el contenido intestinal y para ésto se utiliza el sondeo duodenal, por ejemplo: Giardia lamblia, Fasciola hepatica y Strongyloides stercoralis, pues por el hecho de no encontrar a estos parásitos en materia fecal por los métodos previamente mencionados, no se descartan definitivamente o en el caso de fasciolosis, el encontrar en este producto huevos de Fasciola hepatica no es seguro que el paciente presente dicha parasitosis, porque posiblemente corresponda a una pseudoparasitosis (1).

A pesar de que algunos helmintos tienen como habitat el intestino, para su detección es necesario hacer estudios que no son materia fecal; el ejemplo clásico es la enterobiasis, cuyo diagnóstico se hace principalmente por el método de Graham o raspado perianal (1,23).

2.4 LOS COPROPARASITOSCOPICOS DE CONCENTRACION POR FLOTACION.

Los estudios coproparasitoscópicos de concentración por flotación tienen como fin el separar los elementos parasitarios microscópicos de la masa de materia de la muestra formada por bacterias, alimento no digerido, etc., utilizando un medio líquido de suspensión más

denso que los parásitos, por lo que éstos suben a la superficie y pueden ser recogidos de la película superficial. Para que esta técnica sea útil, no basta con que el medio de suspensión sea más denso que los parásitos que han de flotar, sino además no deben de producir retracciones que los haga irreconocibles (24).

El medio de flotación originalmente empleado era una solución concentrada de cloruro de sodio, con una densidad de 1.200° Baumé. Los huevos de los helmintos intestinales más comunes no se dañan por este procedimiento, pero las larvas de uncinarias, así como los quistes de protozoarios, se contraen deformando su morfología (24).

Los métodos de flotación-centrifugación combinan los principios de la gravitación y de la flotación, produciendo altas concentraciones de parásitos prácticamente libres de detritos (15).

La mayor o menor facilidad con que se reconocen los parásitos depende del medio de flotación empleado y de la especie de parásito de que se trate, por lo que desde la aparición de los coproparasitoscópicos por concentración-flotación se han ideado varias técnicas y modificaciones, entre las que se encuentran las siguientes:

2.4.1 Método de flotación de Willis (1921).

Willis en 1921 describe este método, basado en la propiedad que tiene las soluciones de alta densidad de hacer flotar objetos menos densos. Es una técnica muy sencilla y práctica, ya que para realizarla sólo se requiere de microscopio y laminillas, aunque

actualmente se ha venido utilizando muy poco en los laboratorios de diagnóstico parasitológico. Este método se basa en un principio de flotación simple utilizando una solución de cloruro de sodio de una densidad de entre 1.200 y 1.250° Baumé, en la que los quistes, huevos y larvas flotan adecuadamente (7).

- a) En un recipiente de vidrio o plástico de aproximadamente 50 ml colocar de 2 a 3 g de materia fecal, añadir una pequeña cantidad de solución saturada de cloruro de sodio, homogeneizar y agregar más solución saturada hasta cerca del borde del recipiente.
- b) Colocar un cubreobjetos sobre la boca del recipiente, de tal manera que quede en contacto con el menisco de la suspensión y dejar reposar durante 15 a 30 minutos, después tomar el cubreobjetos y colocar sobre un portaobjetos, al cual se le ha puesto una gota de lugol parasitológico, y observar al microscopio con objetivos 10x y 40x.

Debido a la concentración de la solución, la observación de las preparaciones se debe hacer de inmediato ya que las estructuras parasitarias pueden sufrir deformación. Esta técnica obtiene una buena concentración de quistes, huevos y larvas, y por su sencillez resulta un buen método para el trabajo de campo. Las preparaciones pueden quedar con detritos en la mayor parte, ocasionando dificultad en la observación microscópica (6,23).

2.4.2 Centrifugación flotación directa (1924).

Esta técnica fue desarrollada por Lane en un esfuerzo por salvar algunas de las dificultades inherentes a los métodos más sencillos.

Es uno de los métodos más precisos y delicados hasta ahora ideados y concentra en la película superficial prácticamente todos los huevos de uncinarias, Ascaris y Trichuris. El método es demasiado complicado para el trabajo de campo, aunque es adecuado para un laboratorio central de diagnóstico, donde se requiere una precisión máxima y que cuenta con buena asistencia técnica (5).

2.4.3 Centrifugación flotación con sulfato de cinc de Faust y colaboradores

Esta técnica fue desarrollada para cubrir las necesidades del laboratorio, con el fin de obtener una alta concentración de quistes de protozoarios, huevos de helmintos, larvas presentes en las heces en un estado fácilmente reconocibles. Todos los elementos parasitarios menos los huevos más pesados que el medio de flotación se recuperan en altas concentraciones y en condición viable. La concentración más útil de sulfato de cinc para hacer flotar las estructuras parasitarias más comunes es de 1.180° Baumé (5). Los pasos de la técnica empleando solución de sulfato de cinc con dicha densidad (aproximadamente 33% de sulfato de cinc USP seco granulado) son los siguientes:

- a) Preparar una suspensión fecal con una parte de la muestra de heces (del tamaño de una nuez pequeña) aproximadamente en 10 partes de agua del grifo.
- b) Filtrar aproximadamente 10 ml de la suspensión a través de una

capa de gasa húmeda (en un embudo chico) en un tubo de Wassermann.

- c) Centrifugar esta suspensión durante 45 a 60 segundos a máxima velocidad en una centrifuga clínica internacional (2300 rpm). Decantar el sobrenadante, agregar 2 o 3 ml de agua, romper el sedimento por agitación y llenar el tubo de agua nuevamente.
- d) Repetir el paso c (generalmente 2 o 3 veces) hasta que el sobrenadante quede claro.
- e) Decantar el último sobrenadante, agregar 3 o 4 ml de solución de sulfato de cinc con densidad de 1.180° Baumé, romper el sedimento y agregar más solución hasta 1 cm cerca del borde del tubo.
- f) Centrifugar durante 45 o 60 segundos a máxima velocidad.
- g) Con una asa de alambre recoger varias muestras de la película superficial, colocar en un portaobjetos limpio, añadir una gota de colorante de yodo (yodo saturado en KI al 1%), y agitar la preparación manualmente para asegurar una tinción uniforme.
- h) Colocar un cubreobjetos y queda lista para examinarla.

Esta técnica es la más utilizada, debido a que se logra aislar la mayoría de los parásitos más comunes en el hombre, no obstante se han hecho modificaciones pretendiendo mejorarla, unas aumentando la concentración de sulfato de cinc y en consecuencia su densidad, otras eliminando los filtrados y los lavados y aquellas que recomiendan diversas formas de tomar el material flotante con el fin de obtener la mayor cantidad de éste. Sin embargo, en esencia tienen el mismo fundamento que el método de Faust y es el que goza

de mayor predilección en los laboratorios de análisis clínicos (3,5,7,8,12).

2.4.4. Método de concentración por centrifugación flotación de Ferreira.

Ferreira y Abreu, basados en el método de Faust, desarrollaron esta técnica útil, para el recuento de larvas y huevos de helmintos. En la actualidad a pesar de los buenos resultados se utiliza poco por problemas de disponibilidad comercial (23).

Este método se basa en una combinación de los principios de flotación y gravitación. El sulfato de cinc a una densidad de 1.192° Baumé, además de tener mayor peso que algunas formas de los parásitos, no produce retracciones en los quistes, larvas y huevos, por lo que flotan, fenómeno que se acelera por centrifugación y concentración del material mediante un dispositivo especial: la campana de Ferreira, aditamento especial de plástico o vidrio, en forma de embudo alargado, que en su parte ancha mide aproximadamente 20 mm de diámetro y una tuerca insertada al cuello, en su punta tiene un pequeño tubo de hule látex (4).

- a) Preparar una suspensión de materia fecal, en un frasco de boca ancha, pesar 4 g de material fecal y agregar 36 ml de formol al 10% y homogeneizar con un abatelenguas.
- b) Filtrar la suspensión a través de un embudo cubierto con tela de alambre, sobre el tubo de ensayo y verter toda la suspensión.
- c) Llevar el tubo de ensayo de 25 x 100 mm a la centrífuga a 2000

rpm durante un minuto.

- d) Sacar el tubo, decantar el sobrenadante, añadir agua para resuspender el sedimento, agitando con un aplicador, volver a centrifugar repitiendo la operación hasta obtener un sobrenadante limpio.
- e) Decantar el último sobrenadante y agregar 2 o 3 ml de sulfato de cinc con densidad de 1.192^o Baumé, agitar con el aplicador de madera, hasta resuspender el sedimento, y colocar la campana en el tubo a centrifugar, agregar más sulfato de cinc por fuera de la campana, hasta un poco más arriba de donde comienza la parte delgada del dispositivo, así el material pasa al interior del mismo.
- f) Centrifugar, sacar el tubo y tomar la campana presionando el hule con los dedos e invertir sobre un portaobjetos, agregar 2 o 3 gotas de lugol por la parte ancha, mezclar con el cubreobjetos y cubrir con el mismo.
- g) Observar la preparación al microscopio, contar los huevos y larvas que se encuentran en toda el área y multiplicar por 5, para obtener el número 6 aproximado de huevos por gramo de heces, los quistes de protozoos sólo se reportan.

Esta técnica reúne las características de un coproparasitoscópico de concentración cualitativo y cuantitativo, lo cual le dá una gran sensibilidad al hallazgo de infecciones parasitarias (23).

Otra de las ventajas que presenta esta técnica, es que mediante este dispositivo se permite una mayor concentración de formas parasitarias, ya que por la porción terminal (cuello) de la campana

se concentra el material flotante que contiene larvas y quistes, mismos que se depositan completamente al invertirla sobre el portaobjetos, para barrer todo el material con el lugol que se adiciona para facilitar la observación. En la actualidad se ha observado que es mucho mejor este método que las asadas empleadas en el método de Faust tradicional, debido a que el asa solo toma pequeñas porciones de la película flotante, además de romper la tensión superficial y propiciar que algunos elementos parasitarios se precipiten. Sin embargo, este metodo no ha resultado práctico en el trabajo rutinario por las dificultades para conseguir centrífugas con camisas para los tubos de 25 x 100 mm que se usan en la técnica, así como los mismos tubos y la gran cantidad de sulfato de cinc que se tiene que utilizar (4,23).

2.4.5 Tubo de plástico en técnicas de flotación. Armando Bayona-González.

Se propone el empleo de un tubo de material plástico, flexible, que al ser presionado con la mano haga subir el nivel del líquido hasta formar un menisco en la boca del tubo, con el fin de tomar la película que contiene huevos, larvas y quistes de parásitos intestinales. Se hizo un estudio comparativo entre el Faust tradicional y el tubo plástico, obteniéndose mejores resultados con este último (2).

a) Emulsionar la muestra de heces con agua de la llave y colocar la suspensión en un tubo de acetato de celulosa "celluplastic", de

15 x 125 mm, el cual se encuentra cerrado al calor por unos de sus extremos.

- b) Centrifugar dos minutos a media velocidad, eliminar el sobrenadante.
- c) Agregar al sedimento sulfato de cinc a una densidad de 1.180° Baumé, hasta 2 cm abajo de la boca del tubo y centrifugar dos minutos a máxima velocidad.
- d) Sacar el tubo y hacer una ligera presión en la parte media del tubo, colectándose el velo al poner en contacto un portaobjetos y después el cubreobjetos.

Entre las ventajas del tubo plástico destaca la sencillez del procedimiento, la obtención de cuentas más abundantes, además del ahorro en equipó, tiempo y costo (2).

Como desventaja se tiene que el acetato de celulosa no resiste grandes presiones. Si se deja con agua por algun tiempo se ablanda tanto que al someterlo a una centrifugación intensa, se hincha peligrosamente; el agua caliente lo deforma con rapidez. El lavado debe hacerse con material que no lo raspe y evitando sustancias químicas que lo disuelvan o perjudiquen (2).

2.4.6 Técnica de Bass por flotación con salmuera, modificación de de la técnica de Willis.

La modificación de Bass a la técnica de Willis consiste principalmente en que se utiliza solución de cloruro de sodio a una densidad de 1.200° Baumé y en que el tiempo que se deja en reposo,

con el fin de que se lleve a cabo el proceso de flotación de los parásitos intestinales, es de una hora, formándose así en este tiempo, una película superficial, la cual se adhiere al portaobjetos colocado sobre un vaso cilíndrico que contiene la solución de salmuera (7,25).

2.4.7 Técnica de Faust modificada.

Este procedimiento es una de las varias modificaciones que ha sufrido la técnica de Faust original, con el fin de obtener mejores resultados, dicha modificación consiste en la forma en que se lleve a cabo la homogeneización y en que el material flotante es observado en solución y en yodo. El método consiste en los siguientes pasos:

- a) Seleccionar una porción de heces (si es posible formada), del tamaño de una nuez y ponerla en un tubo Wassermann conteniendo de 3 a 4 ml de agua de la llave.
- b) Con un aplicador mezclar perfectamente y descartar las partículas grandes.
- c) Llenar el tubo con agua hasta 1 cm abajo del tope y centrifugar a 1600 rpm durante un minuto.
- d) Tirar el sobrenadante, agregar un poco de agua, cerrar el tubo con un tapón y por agitación vigorosa remezclar el sedimento hasta obtener una homogeneización uniforme.
- e) Volver a llenar el tubo con agua y recentrifugar. Repetir el lavado hasta que el sobrenadante quede claro.

- f) Decantar y mezclar el sedimento. Llenar el tubo con solución de sulfato de cinc densidad de 1.180° Baumé y centrifugar.
- g) Tomar con una varilla de alambre el material suspendido de la superficie y colocarlo sobre una gota de solución salina y otra parte sobre una gota de yodo, observar al microscopio.

Esta técnica mostró ser satisfactoria para la detección de quistes de protozoarios y huevos de helmintos (12).

2.4.8 Modificación a la técnica de Faust.

Esta técnica al igual que todas las modificaciones al Faust tradicional sigue los mismos pasos, sólo que después de la centrifugación con sulfato de cinc, se añade por la pared del tubo más medio de flotación hasta el tope del tubo, después se coloca un portaobjetos sobre el tubo con el fin de tomar el material flotante, una vez que quedan en contacto se invierte al portaobjetos, se le pone una gota de lugol y se observa al microscopio (7).

2.4.9 Tinción con hematoxilina de una preparación de material flotante obtenido por la técnica de Faust.

- a) Se lleva a cabo el mismo procedimiento que en la técnica de Faust original.
- b) Después de la centrifugación con sulfato de cinc, sacar el tubo y tomar el material con una asa de alambre, colocándolo sobre un

portaobjetos que contiene una gota de suero humano fresco, mezclar perfectamente, extendiendo la preparación en un área de 20 x 40 mm.

- c) Fijar en caliente con una solución de Shaudinn (60° C) por 5 minutos.
- d) Observar al microscopio.

La experiencia con esta técnica muestra que no es sensible ya que se detectaron positivas sólo un 40% de las muestras tomadas de pacientes infectados con protozoarios y helmintos (7).

2.4.10 Técnica de centrifugación flotación con salmuera.

- a) Preparar una suspensión fecal con una parte de la muestra de heces (del tamaño de una nuez) aproximadamente en 10 partes de agua de la llave.
- b) Filtrar la suspensión colocándola en un tubo de centrifugación hasta 1 cm abajo del tope.
- c) Centrifugar 45 segundos a 2640 rpm. El sobrenadante se desecha, volver a añadir agua, rehomogeneizar y centrifugar nuevamente. Repetir este procedimiento 3 o 4 veces, hasta obtener un sobrenadante claro.
- d) Después de la última lavada, el sedimento se remezcla con una pequeña cantidad de solución saturada de cloruro de sodio a una densidad de 1.200° Baumé, llenar el tubo hasta 1 cm abajo del tope y centrifugar.
- e) Tomar el material flotante con una asa de alambre y colocar

sobre un portaobjetos que contenga una gota de yodo, mezclar y observar al microscopio.

La centrifugación flotación con salmuera para el hallazgo de quistes de protozoarios es ineficaz debido a que provoca la destrucción de éstos, por lo que se piensa que el cloruro de sodio a una alta concentración cristaliza formando agujas que rompen la membrana del quiste provocando su destrucción, o que por osmosis se provoca que el quiste reviente por diferencia de presión (7,13).

2.4.11 Modificación a la técnica de flotación con sulfato de cinc usando muestras de heces formolizadas.

Este método elimina los pasos de lavado y utiliza una fijación con formol para aclarar las estructuras internas de los quistes de protozoarios y previene la distorsión comúnmente asociada con las soluciones de sales de alta densidad.

- a) Tomar una pequeña porción de heces y colocar sobre una pequeña cantidad de solución de formalina, hasta formar una mezcla homogénea.
- b) Filtrar a través de una capa de gasa y recibir en un tubo de 16 x 100 mm.
- c) Centrifugar a 1800 rpm durante 3 a 5 minutos. El sobrenadante es desechado.

Resuspender el sedimento con una solución de sulfato de cinc a una densidad de 1.195 a 1.200° Baumé y llenar el tubo hasta 1 cm

abajo del tope del tubo.

Homogeneizar usando dos aplicadores de madera.

- d) Centrifugar a 1500 rpm por 1.5 minutos.
- e) Con un asa de alambre con diámetro de 7 mm tomar la película superficial formada y colocar sobre una gota de solución salina al 1.85% y una segunda toma sobre una gota de yodo puestas previamente sobre un portaobjetos. Colocar el cubreobjetos y examinar (3).

2.4.12 Técnica de flotación con una solución acetoformo azucarada. La solución esta compuesta por 100 ml de ácido acético, 100 ml de formol, 550 g de azúcar de caña y agua, la cantidad suficiente para 1000 ml. Después de disuelta el azúcar se procede a filtrar por gasa doble. Disolver un gramo de heces en 15 ml de la solución, agitándola en un tubo de ensayo durante 3 minutos pasándolo después por un colador fino recogiendo el líquido filtrado en una copa de cristal de 15 ml. Después llenar la copa con la misma solución y dejar reposar 30 a 40 minutos. Con una pinza de disección tomar un cubreobjetos, poner en contacto con la superficie y colocar sobre un portaobjetos. Examinar al microscopio (7).

2.4.13 Examen coproparasitoscópico de flotación con solución de sacarosa.

Esta técnica se utiliza en casos de emergencia, cuando no se tiene otro tipo de reactivo a la mano. La densidad a la cual se utiliza la solución de sacarosa o azúcar común es de 1.180° Baumé.

- a) Realizar una suspensión de aproximadamente 1 g de materia fecal, en un frasco de boca ancha, con una pequeña cantidad de la solución de sacarosa hasta lograr una suspensión homogénea.
- b) Llenar el frasco, agitando con el abatelenguas.
- c) Colocar el cubreobjetos en la boca del frasco de manera que quede en contacto con la solución, evitando en lo posible la formación de burbujas; dejar reposar durante 5 minutos.
- d) Tomar el cubreobjetos y colocar sobre un portaobjetos que tiene una gota de lugol.
- e) Examinar todos los campos con el microscopio.

La desventaja que tiene esta técnica es que la solución de sacarosa atrae moscas provocando las molestias consiguientes

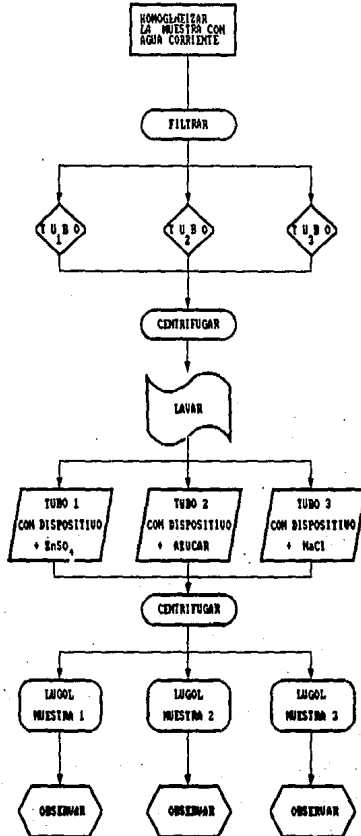
(23).

C A P I T U L O I I I

PARTE EXPERIMENTAL.

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 DIAGRAMA EXPERIMENTAL.



3.2 MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO.

3.2.1 Material biológico.

Se trabajó con 200 muestras de niños de 5 meses a 15 años de edad asistentes a la consulta externa e internos del Hospital General de México o de algunos Estados de la República.

Las muestras fueron escogidas al azar, entre las que normalmente se reciben para el estudio parasitológico, se revisaban y separaban las que se procesarían, el único criterio de selección fue que la cantidad de excremento fuera suficiente para la ejecución de los exámenes.

3.2.2 Material de laboratorio.

- Recipiente de boca ancha de vidrio o vaso de precipitado de plástico de 50 ml.
- Tubos de ensayo de vidrio de 13 x 100 mm
- Gradilla
- Embudo de plástico de 7.5 cm de diámetro
- Portaobjetos de 76 x 26 mm
- Cubreobjetos de 24 x 40 mm
- Abatelenguas
- Piseta de 500 ml
- Dispositivo de concentración: tubo plástico rígido con un extremo cónico terminado en un tallo hueco, justo a la luz de los tubos

de ensayo 13 x 100 mm de uso común en los laboratorios clínicos, que en su porción ancha mide 0.8 cm por 6.5 cm de largo, con un cuello de 1.5 cm de largo por 0.5 cm de diámetro (Figura 1).

3.2.3 Reactivos.

- Sulfato de cinc, Q.P., seco granulado (Baker Analyzed Reactivo).
- Yodo cristaloido (Laitz).
- Yoduro de potasio, cristales (Baker Analyzed Reactivo).
- Azúcar refinada común.
- Sal común.
- Agua destilada.

3.2.4 Equipo.

- Centrifuga con camisas para tubos de 13 x 100 mm (Solbat 16 plazas).
- Microscopio óptico compuesto (Swift).
- Densímetro graduado de 1.100 a 1.200^o Baumé (F. Mantey B.).

3.2.5 Preparación de reactivos.

- Solución de sulfato de cinc con densidad de 1.1920 Baumé.
Pesar 400 g de sulfato de cinc, los cuales se colocan en un vaso de precipitado de 1000 ml, agregar agua destilada hasta la marca de 1 litro. Disolver el sulfato de cinc en el agua agitando vigorosamente. Ajustar la densidad con el densímetro, agregando agua o sulfato, según sea el caso, hasta lograr la densidad deseada.

- Solución de azúcar a tres densidades: 1.200, 1.196 y 1.190° Baumé.

En un vaso de precipitado de 500 ml hacer un jarabe de azúcar con una mínima cantidad de agua destilada y agitar hasta que el azúcar quede totalmente disuelto, agregar agua poco a poco hasta obtener la densidad deseada. Filtrar a través de una gasa con el fin de quitar basura que pudiera existir.

- Solución de sal a densidades de: 1.200, 1.196 y 1.190° Baumé. Se procede de la misma forma que con el azúcar.

- Solución de lugol parasitológico.

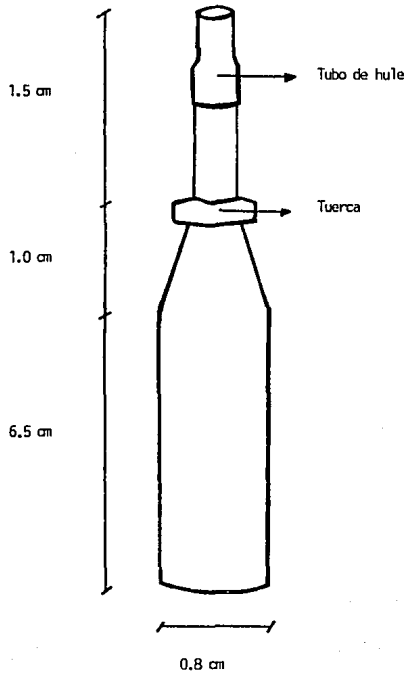
Pesar 5 g de yodo cristaloides y 10 g de yoduro de potasio, colocar ambos en un matraz, al cual se le agregan 100 ml de agua destilada, agitar vigorosamente para que se disuelva la mayor cantidad posible, una vez disuelto guardar en un frasco gotero ámbar.

3.3 METODOLOGIA.

El presente método es una modificación a la técnica original de Faust y a la técnica de Ferreira.

- a) Hacer una suspensión homogénea con 2 a 3 g de materia fecal y 30 ml de agua de la llave en un vaso de precipitado.
- b) Filtrar esta suspensión a través de una gasa colocada en un em-

FIGURA 1



CAMPANA DE CONCENTRACION.

- budo y colectar el filtrado directamente en los tres tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
- c) Centrifugar los tubos a 1500 rpm durante un minuto.
 - d) Decantar el sobrenadante y resuspender el sedimento con agua, agitando hasta homogeneizar completamente.
 - e) Centrifugar nuevamente y volver a decantar el sobrenadante.
 - f) Agregar de 2 a 3 ml del medio de flotación: para el tubo 1 sulfato de cinc, al tubo 2 solución de azúcar y al tercero solución de cloruro de sodio; agitar vigorosamente hasta re-resuspender el sedimento.
 - g) Colocar la campana en los tubos, agregar más medio de flotación por fuera de la campana, llenando los tubos hasta 1 cm por abajo del borde, así la suspensión pasa al interior de la campana.
 - h) Centrifugar a 1500 rpm durante 1 minuto. Sacar los tubos y tomar la campana presionando con los dedos índice y pulgar el tubo látex que se encuentra en el tallo de la campana y sacar del tubo.
 - i) Invertir la campana sobre el portaobjetos, agregar 1 o 2 gotas de lugol por su parte ancha, de manera que arrastren el contenido de la parte estrecha, donde se encuentran las formas parasitarias.
 - j) Homogeneizar la suspensión con el ángulo del cubreobjetos de 24 x 40 mm, ya que la muestra que se obtiene es mayor que en el método de Faust, y colocar éste sobre el portaobjetos.
 - k) La preparación está lista para observarse al microscopio con objetivos de 10x y 40x, revisar totalmente la preparación.

3.4 DESARROLLO EXPERIMENTAL.

Con el fin de evaluar la factibilidad del uso de un dispositivo de concentración, fue necesario probar diferentes medios de flotación a distintas densidades, hasta encontrar aquella que con ayuda del dispositivo plástico llegara a concentrar una mayor cantidad de material parasitario.

Se probaron 3 densidades distintas para la sal y el azúcar, y una sola ya descrita en el laboratorio como óptima, para el caso del sulfato de cinc.

El estudio se realizó en tres etapas:

- 1a. etapa: se evaluaron soluciones de sal y azúcar a una densidad de 1.200° Baumé.
- 2a. etapa: la densidad utilizada fue de 1.196° Baumé para ambos productos.
- 3a. etapa: se usó en dichos medios de flotación una densidad de 1.190° Baumé.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION.

RESULTADOS Y DISCUSION .

4.1 RESULTADOS.

Se procesaron un total de 200 muestras, de las cuales se obtuvieron los siguientes resultados:

Para la etapa 1 se llevaron a cabo 50 exámenes, obteniéndose para el sulfato de cinc al igual que para el azúcar un 42% (21) de casos positivos y un 58% (29) de casos negativos, a diferencia de la sal en donde sólo un 36% (18) resultó positivo y el 64% (32) restante, negativo (Tabla 1).

Para la etapa 2, de las 50 muestras procesadas se obtuvo para el sulfato de cinc un 60% (30) de positividad y un 40% (20) de casos negativos. Para el azúcar el 56% (28) resultó positivo, y negativo el 44% (22). Finalmente para la sal sólo un 42% (21) se diagnosticó como positivo y un 58% (29) negativo (Tabla 2).

En la etapa 3, del total de muestras procesadas (50), se obtuvo para el sulfato de cinc un 58% (29) de positivos y un 42% (21) de negativos; para la sal sólo un 40% (20) resultó positivo, teniendo como negativos un 60% (30); para el azúcar se obtuvo un 52% (26) positivos y un 48% (24) negativos.

De los resultados obtenidos en las tres etapas, se observó que el azúcar a densidad de 1.200° Baumé concentraba de manera similar al sulfato de cinc, por lo que se procesaron otras 50 muestras con el

fin de tener un mayor número de casos (100). Se obtuvo un 76% (38) de casos positivos para el sulfato de cinc y un 24% (12) de casos negativos. Para el azúcar se obtuvo un 70% (35) de diagnósticos positivos y un 30% (15) de negativos (Tabla 4).

De los casos positivos obtenidos de la primera etapa, con densidades para el azúcar y sal de 1.200° Baumé, se observó que para los protozoarios hubo una importante diferencia en el aislamiento de quistes, siendo menor para el cloruro de sodio, en cambio no se observó diferencia en el aislamiento de huevos de helmintos (Tablas 5 y 6). Este mismo fenómeno se observó en las densidades para el azúcar y cloruro de sodio de 1.196° Baumé (Tablas 7 y 8), al igual que en las concentraciones de 1.190° Baumé (Tablas 9 y 10).

Entre el azúcar y el sulfato de cinc no se encontraron tendencias de mayor aislamiento especialmente para protozoos y para helmintos, ni en particular para algun parásito (Tabla 11 y 12).

En el estudio comparativo en que se utilizó el azúcar a diferentes densidades de 1.200, 1.196 y 1.190° Baumé, se observó un mayor aislamiento de quistes de protozoos de los géneros Entamoeba, Chilomastix, Endolimax y Iodamoeba cuando se usaron densidades de 1.196 y 1.200° Baumé; en cambio para Giardia lamblia se obtuvo entre 17-20% de mayor aislamiento con el azúcar a 1.190° Baumé, en los huevos de helmintos no hubo mayor diferencia entre las tres densidades del azúcar (Tablas 13 y 14).

El dispositivo de concentración demostró un menor aislamiento de quistes en Cloruro de sodio a densidades de 1.196 y 1.200° Baumé, y no hubo diferencia en los huevos de helmintos (Tablas 15 y 16).

Otro dato que se observó fue que con el sulfato de cinc algunos quistes de protozoarios, particularmente del género Entamoeba, se deforman por colapso de la pared. Este fenómeno se observó con mucho mayor frecuencia cuando se utilizó cloruro de sodio y nunca con el uso de azúcar en las tres densidades utilizadas.

TABLA 1

| RESULTADO | ZnSO ₄ ρ=1.192 | | AZUCAR ρ=1.200 | | NaCl ρ=1.200 | |
|-----------|---------------------------|-------|----------------|-------|--------------|-------|
| | N | X | N | X | N | X |
| POSITIVOS | 21 | 42 X | 21 | 42 X | 18 | 36 X |
| NEGATIVOS | 29 | 58 X | 29 | 58 X | 32 | 64 X |
| TOTAL | 50 | 100 X | 50 | 100 X | 50 | 100 X |

Resultados globales en 50 estudios coproparasitoscópicos realizados en la primera etapa utilizando para el azúcar y la sal una densidad de 1.200° Baume.

TABLA 2

| RESULTADO | ZnSO ₄ ρ=1.192 | | AZUCAR ρ=1.196 | | NaCl ρ=1.196 | |
|-----------|---------------------------|-------|----------------|-------|--------------|-------|
| | N | X | N | X | N | X |
| POSITIVOS | 30 | 60 X | 28 | 56 X | 21 | 42 X |
| NEGATIVOS | 20 | 40 X | 22 | 44 X | 29 | 58 X |
| TOTAL | 50 | 100 X | 50 | 100 X | 50 | 100 X |

Resultados globales en 50 estudios coproparasitoscópicos realizados en la segunda etapa utilizando para el azúcar y la sal una densidad de 1.196° Baume.

TABLA 3

| RESULTADO | ZnSO ₄ ρ=1.192 | | AZUCAR ρ=1.190 | | NaCl ρ=1.190 | |
|-----------|---------------------------|-------|----------------|-------|--------------|-------|
| | N | X | N | X | N | X |
| POSITIVOS | 29 | 58 % | 26 | 52 % | 20 | 40 % |
| NEGATIVOS | 21 | 42 % | 24 | 48 % | 30 | 60 % |
| TOTAL | 50 | 100 % | 50 | 100 % | 50 | 100 % |

Resultados globales en 50 estudios coproparasitoscópicos realizados en la tercera etapa utilizando para el azúcar y la sal una densidad de 1.190° Baume.

TABLA 4

| RESULTADO | ZnSO ₄ ρ=1.192 | | AZUCAR ρ=1.200 | |
|-----------|---------------------------|-------|----------------|-------|
| | N | X | N | X |
| POSITIVOS | 38 | 76 % | 35 | 70 % |
| NEGATIVOS | 12 | 24 % | 15 | 30 % |
| TOTAL | 50 | 100 % | 50 | 100 % |

Resultados globales en 50 estudios adicionales utilizando ZnSO₄ y azúcar con densidad de 1.200° Baume.

TABLA 5

| PARASITO | ZnSO ₄ p=1.192 | AZUCAR p=1.200 | NaCl p=1.200 |
|-----------------------|---------------------------|----------------|--------------|
| Giardia lamblia | 5 | 5 | 6 |
| Chilomastix mesnili | 1 | 1 | 1 |
| Entamoeba coli | 4 | 4 | 0 |
| Entamoeba histolytica | 2 | 2 | 0 |
| Endolimax nana | 12 | 10 | 2 |

Comparacion entre los tres medios de flotacion utilizados en el diagnostico de protozoarios intestinales.

TABLA 6

| PARASITO | ZnSO ₄ p=1.192 | AZUCAR p=1.200 | NaCl p=1.200 |
|-------------------------|---------------------------|----------------|--------------|
| Trichouris trichiura | 1 | 2 | 2 |
| Hymenolepis nana | 6 | 7 | 7 |
| Enterobius vermicularis | 1 | 1 | 0 |
| Ascaris lumbricoides | 2 | 2 | 2 |

Comparacion entre los tres medios de flotacion utilizados en el diagnostico de helmintos intestinales.

TABLA 7

| PARASITO | ZnSO ₄ p=1.192 | AZUCAR p=1.196 | NaCl p=1.196 |
|-----------------------|---------------------------|----------------|--------------|
| Giardia lamblia | 5 | 4 | 3 |
| Chitonastix mesnili | 2 | 2 | 1 |
| Entamoeba coli | 11 | 2 | 0 |
| Entamoeba histolytica | 5 | 5 | 0 |
| Endolimax nana | 10 | 12 | 3 |
| Iodamoeba butschili | 1 | 1 | 0 |

Comparacion entre los tres medios de flotacion utilizados en el diagnostico de protozoarios intestinales.

TABLA 8

| PARASITO | ZnSO ₄ p=1.192 | AZUCAR p=1.196 | NaCl p=1.196 |
|----------------------|---------------------------|----------------|--------------|
| Trichuris trichiura | 4 | 4 | 6 |
| Hymenolepis nana | 10 | 10 | 9 |
| Ascaris lumbricoides | 1 | 2 | 1 |
| Uncinarias | 1 | 1 | 1 |

Comparacion entre los tres medios de flotacion utilizados en el diagnostico de helmintos intestinales.

TABLA 9

| PARASITO | ZnSO ₄ f=1.192 | AZUCAR f=1.190 | NaCl f=1.190 |
|-----------------------|---------------------------|----------------|--------------|
| Giardia lamblia | 10 | 11 | 8 |
| Chilomastix mesnili | 3 | 1 | 0 |
| Entamoeba coli | 15 | 10 | 0 |
| Entamoeba histolytica | 3 | 3 | 0 |
| Endolimax nana | 17 | 9 | 0 |
| Iodamoeba butschlii | 2 | 1 | 0 |

Comparacion entre los tres medios de flotacion utilizados en el diagnostico de protozoarios intestinales.

TABLA 10

| PARASITO | ZnSO ₄ f=1.192 | AZUCAR f=1.190 | NaCl f=1.190 |
|-------------------------|---------------------------|----------------|--------------|
| Trichouris trichiura | 2 | 2 | 2 |
| Hymenolepis nana | 6 | 5 | 5 |
| Enterobius vermicularis | 1 | 0 | 0 |
| Ascaris lumbricoides | 3 | 3 | 3 |

Comparacion entre los tres medios de flotacion utilizados en el diagnostico de helmintos intestinales.

TABLA 11

| PARASITO | ZnSO ₄ ρ=1.192 | AZUCAR ρ=1.200 |
|-----------------------|---------------------------|----------------|
| Giardia lamblia | 17 | 17 |
| Chilomastix mesnili | 4 | 4 |
| Entamoeba coli | 14 | 16 |
| Entamoeba histolytica | 8 | 8 |
| Endolimax nana | 33 | 31 |
| Iodamoeba butschilli | 2 | 1 |

Comparacion de las 100 muestras procesadas con ZnSO₄ y azucar a densidad de 1.200° Baume para el diagnostico de protozoarios.

TABLA 12

| PARASITO | ZnSO ₄ ρ=1.192 | AZUCAR ρ=1.200 |
|-------------------------|---------------------------|----------------|
| Trichuris trichiura | 7 | 7 |
| Hymenolepis nana | 10 | 12 |
| Enterobius vermicularis | 1 | 1 |
| Ascaris lumbricoides | 3 | 3 |
| Ovicinarias | 1 | 1 |

Comparacion de las 100 muestras procesadas con ZnSO₄ y azucar a densidad de 1.200° Baume para el diagnostico de helmintos.

TABLA 13

| PARASITO | AZUCAR $\rho=1.200$ | AZUCAR $\rho=1.196$ | AZUCAR $\rho=1.190$ |
|------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| <i>Giardia lamblia</i> | 83.3 % | 88.0 % | 100.0 % |
| <i>Chilomastix mesnili</i> | 100.0 % | 100.0 % | 33.3 % |
| <i>Entamoeba coli</i> | 100.0 % | 100.0 % | 66.6 % |
| <i>Entamoeba histolytica</i> | 100.0 % | 100.0 % | 100.0 % |
| <i>Endolimax nana</i> | 83.3 % | 66.6 % | 33.3 % |
| <i>Iodamoeba butschlii</i> | 100.0 % | 100.0 % | 50.0 % |

Comparacion entre las tres diferentes densidades del azucar en el diagnostico de protozoarios intestinales.

TABLA 14

| PARASITO | AZUCAR $\rho=1.200$ | AZUCAR $\rho=1.196$ | AZUCAR $\rho=1.190$ |
|--------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| <i>Trichouris trichiura</i> | 100.0 % | 66.6 % | 100.0 % |
| <i>Hymenolepis nana</i> | 100.0 % | 100.0 % | 83.3 % |
| <i>Enterobius vermicularis</i> | 100.0 % | 100.0 % | 0 |
| <i>Ascaris lumbricoides</i> | 100.0 % | 100.0 % | 100.0 % |
| <i>Oncinospira</i> | 100.0 % | 100.0 % | 100.0 % |

Comparacion entre las tres diferentes densidades de azucar utilizadas en el diagnostico de helmintos intestinales.

TABLA 15

| PARASITO | NaCl f=1.200 | NaCl f=1.196 | NaCl f=1.190 |
|---------------------|--------------|--------------|--------------|
| Giardia lamblia | 100.0 X | 60.0 X | 72.7 X |
| Chilemastix mesnili | 100.0 X | 50.0 X | 0 |
| Endolimax nana | 16.6 X | 16.6 X | 0 |

Comparacion entre las tres diferentes densidades utilizadas para el NaCl en el diagnostico de protozoarios intestinales en base al total de parasitos reportados en ZnSO₄.

TABLA 16

| PARASITO | NaCl f=1.200 | NaCl f=1.196 | NaCl f=1.190 |
|----------------------|--------------|--------------|--------------|
| Trichuris trichiura | 100 X | 100 X | 100 X |
| Hymenolepis nana | 100 X | 90 X | 83.3 X |
| Osearis lumbricoides | 100 X | 50 X | 100 X |
| Vicinarias | 0 | 100 X | 0 |

Comparacion entre las tres diferentes densidades utilizadas para el NaCl en el diagnostico de helmintos intestinales en base al total de parasitos reportados en ZnSO₄.

4.2 DISCUSION.

Después de analizar los resultados obtenidos de las 200 muestras de materia fecal estudiadas, se observó que el diagnóstico de quistes y huevos de parásitos de localización en el intestino del hombre, se mejora en virtud de que se aisló una cantidad de material a observar microscópicamente, en comparación con el método de Faust en donde la toma del material flotante se hace mediante el asa, que sólo toma pequeñas porciones y que se realiza de manera cuidadosa y adecuada, para evitar el error de romper la tensión superficial, propiciando que algunos elementos parasitarios se precipiten, con la consecuente disminución de posibilidades para detectar el material parasitario. Con el dispositivo plástico se disminuye el problema de error humano, ya que solamente se invierte el dispositivo y se adiciona lugol parasitológico, el cual además de servir como medio de tinción, ayuda a arrastrar todo el material parasitario depositado en el dispositivo de concentración y recibiendo directamente en el portaobjetos, hecho que resulta además de práctico como un ahorro de tiempo en el trabajo de rutina. Después de haber realizado los estudios con el dispositivo y los medios de concentración a las diferentes densidades que se describieron en la metodología, se encontró que los resultados ponen de manifiesto que el sulfato de cinc, el azúcar y la sal utilizados a densidades por arriba de 1.190° Baumé, son capaces de concentrar por flotación formas parasitarias. El análisis

comparativo entre los resultados obtenidos con la sal y el azúcar mostró que el cloruro de sodio concentra las formas parasitarias prácticamente a densidades desde 1.190, 1.196 y 1.200° Baumé y que comparativamente con el sulfato de cinc es inferior en eficacia como concentrador de parásitos, dicho de otra manera el sulfato de cinc es un mejor producto para la realización de exámenes coproparasitoscópicos de centrifugación flotación que el cloruro de sodio. Esto lleva a pensar que el método de concentración simple de Willis o el método de la salmuera (que utilizan como medio de flotación cloruro de sodio), además de los inconvenientes de mucha suciedad o presencia de detritos y la inadecuada recuperación de material parasitario (7), resulta ser un método muy poco recomendable para la realización eficiente de un examen coproparasitoscóptico.

El uso de soluciones con azúcar, éste es azúcar simple comercial, para uso domiciliario, en concentraciones que llevaron la solución a densidades de 1.190, 1.196 y 1.200° Baumé fueron eficaces para la concentración de formas parasitarias en la superficie de la solución, en éste caso si se observó una diferencia importante con las densidades mencionadas, de tal forma que en términos generales se puede decir que la mejor densidad fue la de 1.200° Baumé, con ella se logró un mayor número de diagnósticos y por lo tanto una menor cantidad de falsos negativos, comparativamente contra el sulfato de cinc los resultados fueron muy similares. Así se puede

decir, que en cuanto a eficacia diagnóstica en los estudios coproparasitológicos resulta lo mismo utilizar sulfato de cinc o azúcar, siempre y cuando cualquiera de las dos soluciones sean preparadas a densidades mayor de 1.1900° Baumé y hasta 1.200° Baumé, con la diferencia muy importante de que el precio entre una y otra simplemente es imposible de comparar y más aún la accesibilidad al producto es prácticamente inmediata y a la vuelta de la esquina, no siendo así para el sulfato de cinc, ya que éste último solamente se puede obtener en casas comerciales y a los altos precios que éstas fijan.

Una gran ventaja observada en la comparación entre el sulfato de cinc y el azúcar es el hecho de que el primero al encontrarse a una alta concentración, cristaliza formando agujas que rompen los quistes, aunque en un menor grado que el producido por el cloruro de sodio. Esto no sucede con el azúcar que muestra dichas estructuras parasitarias perfectamente conservadas y por un tiempo mayor que en el sulfato de cinc, en donde en la mayoría de los casos se tenía que buscar varias estructuras para poder determinar en el caso de Entamoeba, la especie de la cual se trataba.

CAPITULO V

CONCLUSIONES.

C O N C L U S I O N E S .

Un análisis global de los exámenes coproparasitológicos para diagnóstico de los parásitos intestinales revela que de los muchos procedimientos que existen, los más prácticos son los de concentración por flotación, a tal grado es real que casi todos los laboratorios institucionales y privados manejan en forma rutinaria un estudio de concentración por flotación que recibe genéricamente el nombre de examen coproparasitológico de Faust, a esta técnica con el tiempo se le han ido haciendo numerosas modificaciones para lograr mejores diagnósticos y evitar falsos resultados, ya sean falsos positivos o falsos negativos; la modificación que se hace al introducir un dispositivo plástico de concentración tiene como fin el de recolectar una mayor cantidad de material flotante por lo que la posibilidad de encontrar algún parásito se ve incrementada. En cuanto a la posibilidad de cambiar la solución de sulfato de cinc por azúcar, más que buscar un mayor porcentaje de diagnóstico parasitológico, estaba orientada para tratar de establecer la posibilidad de lograr estudios coproparasitológicos más económicos y que no requirieran de la tramitación a veces sofisticada de materiales que solo manejan casas comerciales especializadas. Por los resultados ya presentados, se puede afirmar que el método coproparasitológico por centrifugación flotación con dispositivo plástico, demostró una mayor concentración de material parasitario

al aumentar el volumen recolectado para la observación microscópica. El procedimiento resulta de muy fácil realización en el laboratorio clínico de rutina, no requiriendo cambios en el material y equipo a excepción de los tubos plástico de concentración, esto aunado a que el uso de soluciones acuosas con azúcar a densidades de 1.196 y 1.200° Baumé representa una excelente alternativa para llevar a cabo exámenes coproparasitoscópicos más baratos sin riesgo de perder eficacia diagnóstica, sin dejar de señalar que en la colecta del menisco de los tubos con muestra se evita la pérdida de gran número de quistes y huevecillos. Por lo tanto quedará a consideración y criterio de los jefes de laboratorio y de las políticas institucionales el utilizar el dispositivo plástico y continuar utilizando sulfato de cinc o en su defecto soluciones azucaradas con azúcar comercial refinada, para las instituciones con serios problemas económicos que dificultan y retrasan la adquisición de materiales de consumo, esta opción se cree que resuelve categóricamente el problema para la realización de estudios coproparasitoscópicos.

BIBLIOGRAFIA.

B I B L I O G R A F I A .

- 1- Alvarez, C. R., Chio, W. M., García, R. J. Diagnóstico parasitoscópico e inmunológico de las enfermedades parasitarias. Infectología. IV (4). 1984.
- 2- Bayona, A., González. Tubo plástico en técnicas de flotación para investigar parásitos intestinales. Ciencia. XIV (11-12): 265-268. 1955.
- 3- Bertlett, Harper, Smith. Comparative evaluation of a modified zinc sulphate flotation technique. J. Clin. Microbiol. 7(6): 524-528. 1978.
- 4- Biagi, F., Portilla, J. Comparison of methods of examining stools for parasites. Am. J. Trop. Med. Hyg. 6: 906. 1957.
- 5- Cable, R. ANN ILLUSTRATED LABORATORY MANUAL OF PARASITOLOGY. Burgues Publishing Co. 1958.
- 6- Calvo, F. R. MANUAL DE HELMINTOLOGIA Y PROTOZOOLOGIA CON APLICACION PRACTICA EN CUBA. Biblioteca del Médico práctico. Vol. XX. 1943.
- 7- Carroll, F. E., Sawitz, W., Tobie, J. Comparative efficiency of various techniques for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. J. Parasit. 25: 241-62. 1939.

- 8- Castilho, V. L., Monteiro. Estudo comparativo entre os métodos de Faust e Ritchie, para exame parasitológico das fezes. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 22 (6): 319-322. 1980.
- 9- De la Loza, S. A., Alcántara, G. P., Ajuria, Z. O., Martínez, G. I. Análisis estadístico de 173498 consultas impartidas por la Brigada de Servicios de Medicina Preventiva. Bol. Médico IMSS. 18(10): 387-403. 1976.
- 10- De la Loza, S. A., Curva, V. J., Saldaña, J. H. Epidemiología de las enfermedades infecciosas en la población amparada por el IMSS. Bol. MédicoIMSS. 17(10): 400-420. 1975.
- 11- García, L.A., Ash, L. R. DIAGNOSTIC PARASITOLOGY. Clinical Laboratory Manual. Mosby Co. 1979.
- 12- Guinn, E. The use of the zinc sulphate centrifugation flotation technique as a routine diagnostic procedure. Am. J. Clin. Pathol. 31 (1): 87-88. 1959.
- 13- Jueco, N. L. Comparison of Kato's thick smear technic and brine flotation technic in the detection of common helminthic infections. Acta Médica Philippina. 5: 148-151. 1969.

- 14- Lawrence, R. A., Mae, M., Moore, D. V. American Society of Parasitologist Comitee on Education. Procedures suggested for use in examination of clinical specimens for parasitic infection. J. Parasitol. 63(5): 959-960. 1977.
- 15- Martínez Baez. MANUAL DE PARASITOLOGIA MEDICA. La Prensa Médica Mexicana. 1957.
- 16- Martínez Palomo A. AMEBIASIS. Elsevier Science Publ. Amsterdam. Prefacio del libro. 1986.
- 17- Martínez Palomo A. LAS AMIBAS. ENEMIGOS INVISIBLES. Fondo de Cultura Económica. 1989.
- 18- Prata, A. Parasitología y Medicina Tropical. Rev. Mexicana de Parasitología. 1(1): 5-6. 1988.
- 19- Ridaura, S. C., López, D. E. Análisis de la mortalidad en el Hospital General de México, SSA. Rev. Med. Hosp. Gral. Méx. 31: 259. 1968.
- 20- Robledo, E., Navarrete, C. E., Portilla, J. Diagnóstico de laboratorio de la amibiasis y otras protozoosis intestinales. Rev. Mexicana de Medicina. 39: 209-213. 1959.

- 21- Romero, C. R., Navarrete, C. E. Importancia de las enfermedades parasitarias. Rev. Inst. Smith Kline French México. Vol. 1, Núm. 1: 6. 1982.
- 22- Saha, H., Sabiastre, V. Comparación de tres métodos en el diagnóstico coproparasitoscópico. Rev. Med. Chile. 103: 175-177. 1975.
- 23- Salazar, S. P., Haro, A. I. MANUAL DE TECNICAS PARA EL DIAGNOSTICO MORFOLOGICO DE LAS PARASITOSIS. Ed. Fco. Méndez Cervantes. 1980.
- 24- Schmidt, G. D.; Roberts, L. S. FOUNDATIONS OF PARASITOLOGY. 4th. edition. Times Mirror/Mosby Publishing USA. 2-4. 1989.
- 25- Swellengrebel, Sterman. ANIMAL PARASITES IN MAN. Van Nostrand Co. Inc. Canada. 1961.
- 26- Tay, J. Epidemiología de las Geohelminthiasis en México. Rev. Salud Pública de México. 1979.
- 27- WHO/UNDP/Word Bank/TAR. News Notes. In TDR News. No. 33. p. 10-11. 1990.