

# Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo

## en el diagnóstico de parásitos intestinales

**Palabras clave:** Parásitos intestinales, técnica de sedimentación espontánea en tubo, *Blastocystis hominis*, *Cyclospora cayetanensis*, *Trichuris trichiura*, *Fasciola hepatica*.

**Key words:** Intestinal parasites, technique of spontaneous sedimentation in tube, *Blastocystis hominis*, *Cyclospora cayetanensis*, *Trichuris trichiura*, *Fasciola hepatica*.

Recibido: 08/02/2006

Aceptado: 24/02/2006

Giovanni Pajuelo Camacho,\* Daniel Luján Roca,\* Bertha Paredes Pérez,\*\* Raúl Tello Casanova\*\*\*

\* Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima-Perú.

\*\* Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Hospital de Emergencias Pediátricas, Perú.

\*\*\* Profesor asociado de Medicina, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Miembro del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

### Correspondencia:

Giovanni Pajuelo Camacho

Av. Garcilazo de la Vega 334 3er piso, Urb. La Colonial, Callao, Perú.

Callao 1 Tel: 5657924 E-mail: giovannipajuelo@yahoo.com.

114

## Resumen

Se ha descrito un nuevo método de concentración simple, de bajo costo y con alta sensibilidad para el diagnóstico de parásitos intestinales. La técnica de sedimentación espontánea en tubo fue aplicada a 108 muestras fecales en pacientes del Hospital de Emergencias Pediátricas, Perú. La sedimentación espontánea mostró un mayor rendimiento (50.9%) en comparación con el examen directo (24.1%) y la técnica de flotación con sulfato de zinc (25.9%); además, fue más eficiente en la detección de quistes de protozoos y huevos de helmintos intestinales. La técnica de sedimentación espontánea en tubo confirmó ser un método de concentración de alto rendimiento, y se convierte en una alternativa aplicable en países en desarrollo.

## Abstract

A new method for simple concentration, of low cost and of high sensibility in the diagnosis of intestinal parasites has been described. The Technique of Spontaneous Sedimentation in Tube was applied to 108 fecal samples in patient of the Hospital of Pediatric Emergencies, Perú. The spontaneous sedimentation showed a better yield (50.9%) in comparison with the direct exam (24.1%) and the flotation technique with sulfate of zinc (25.9%) and it was more efficient in the detection of protozoos cysts and eggs of intestinal helminths. The Technique of Spontaneous Sedimentation in Tube was confirmed as a method of high yield of concentration, and becomes an applicable alternative in countries in development.

## Introducción

Las infecciones parasitarias, producidas por protozoos y helmintos intestinales, afectan a más de dos mil millones de la población mundial<sup>1</sup>

y constituyen un problema de salud pública, especialmente en países en desarrollo con inadecuadas condiciones sanitarias.<sup>2</sup>

El diagnóstico de las infecciones parasitarias intestinales se basa, sobre todo, en el análisis mi-

croscópico de las muestras fecales, que incluyen montajes húmedos directos, concentrados y frotis con tinción permanente. La cantidad de formas parasitarias en muestras de materia fecal es, a menudo, muy escasa y muy difícil de detectar en preparados directos en fresco o en frotis teñidos; por lo tanto, siempre deben realizarse procedimientos de concentración.<sup>3</sup>

En general, las dos técnicas de concentración utilizadas con mayor frecuencia son la de sedimentación y la de flotación.<sup>3,4</sup> El método de concentración por sedimentación con formalina-éter es el procedimiento más utilizado para concentrar quistes de protozoos, huevos y larvas de helmintos; y es más eficiente que los métodos de flotación.<sup>4</sup> No obstante, debe tenerse cuidado durante el proceso de decantar el sobrenadante, ya que pueden perderse una cantidad significativa de formas parasitarias. Además, el éter es un solvente orgánico peligroso y muy inflamable.<sup>3,4</sup> Por otro lado, el método de flotación con sulfato de zinc es útil para recuperar quistes de protozoos y huevos de helmintos; sin embargo, los huevos operculados, al igual que los de *Schistosoma* y los infértilles de *Ascaris*, no se obtienen con facilidad con este método.<sup>3,4</sup>

En los países en desarrollo, el alto costo y suministro controlado e irregular del éter y la carencia de centrífuga impide que muchos laboratorios utilicen esta técnica y otros procedimientos. En ese sentido, el énfasis en la búsqueda e importancia de desarrollar y emplear técnicas sencillas, económicas y más eficaces, resulta considerable. Una prometedora técnica de concentración por sedimentación ha sido descrita.<sup>5</sup> Evaluaciones preliminares de la técnica muestran un mayor rendimiento en comparación con otras técnicas convencionales.<sup>6-10</sup> Este estudio reporta la aplicación y utilización de la técnica de sedimentación espontánea en tubo para el diagnóstico de parásitos intestinales.

## Material y métodos

Las muestras fecales de 108 niños con diagnóstico presuntivo de parasitosis intestinal, atendidos por consultorios externos o de hospitalización del Hospital de Emergencias Pediátricas Lima-Perú, fueron colectadas para investigación. Una muestra de cada paciente pediátrico, evacuadas espontáneamente el mismo día, libres de orina y en cantidad necesaria, fue examinada inmediatamente con la técnica de sedimentación espontánea en tubo (TSET) además del examen microscópico directo con solución salina y lugol y el método de flotación con sulfato de zinc.<sup>4</sup> Fueron excluidos de este estudio las muestras contaminadas con orina, las insuficientes, así como las de pacientes que estuvieron bajo tratamiento antiparasitario.

La técnica de sedimentación espontánea en tubo (TSET) fue adaptada por el Dr. Raúl Tello<sup>5</sup> del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt de Lima, Perú, y se llevó a cabo de acuerdo con las adaptaciones realizadas por el mismo autor.<sup>6,10,11</sup> Fueron separados aproximadamente 2 a 5 g de materia fecal y homogeneizados en 10 mL de solución salina hasta que se logró una suspensión adecuada. Filtrándola a través de gasa, la mezcla fue vertida en un tubo cónico de plástico de 13 x 2.5 cm y 50 mL de capacidad. Se completó el volumen final del tubo con más solución salina y se tapó en forma hermética. Se agitó energéticamente por 30 segundos y se dejó reposar por 45 minutos. Se eliminó el sobrenadante y con una pipeta se tomó una muestra del fondo del tubo. Se colocaron 3 a 4 gotas en dos láminas portaobjetos diferentes, agregándole luego gotas de lugol a una de ellas. Finalmente, las láminas portaobjetos fueron cubiertas con laminillas de celofán de 6 x 2 cm, y se observó al microscopio (100X y 400X).

**Análisis estadístico.** Los resultados fueron analizados en el Epi Info (versión 6.04 b). Luego se aplicó la prueba de chi cuadrada con corrección de Yates para la comparación estadística entre los métodos parasitológicos. Un valor de  $p <$

**Cuadro I.** Rendimiento comparativo de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parásitos intestinales.

Método	Número de muestras examinadas	Positivos n (%)
Examen directo	108	26 (24.1)
Método de flotación ( $ZnSO_4$ )	108	28 (25.9)
TSET	108	55 (50.9)

TSET = Técnica de sedimentación espontánea en tubo.  
( $\chi^2 = 21.32$ ;  $p < 0.001$ )

0.05 fue considerado como el nivel crítico de significancia.

## Resultados

Del total de 108 muestras fecales examinadas por los tres métodos parasitológicos, la técnica de sedimentación espontánea en tubo (TSET) mostró un mayor rendimiento (50.9%) en comparación con el examen directo con solución salina y lugol (24.1%) y la técnica de flotación con sulfato de zinc (25.9%) como se muestra en el cuadro I. Se encontró diferencia estadística significativa entre los métodos de diagnóstico ( $\chi^2 = 21.32$ ;  $p < 0.001$ ).

La TSET presentó mayor efectividad tanto en el diagnóstico de protozoos como de helmintos en comparación con el examen directo y el método de flotación con sulfato de zinc (cuadro II).

La recuperación de las formas vacuoladas de *Blastocystis hominis* fue mejor con el procedimiento de sedimentación espontánea que con el de flotación, principalmente. Además, la morfología de *B. hominis* fue mejor conservada con la TSET que con la técnica de flotación.

De las cuatro muestras que contenían ooquistas de *Cyclospora cayetanensis*, dos fueron diagnosticadas únicamente por la sedimentación espontánea.

**Cuadro II.** Efectividad de los procedimientos: técnica de sedimentación espontánea en tubo, flotación con sulfato de zinc y examen directo en la detección de parásitos intestinales.

Parásito	TSET		$ZnSO_4$		Directo		Total
	F	%	F	%	F	%	
<b>Protozoos</b>							
<i>Blastocystis hominis</i>	37	100.0	3	8.1	7	18.9	37
<i>Entamoeba coli</i>	10	90.9	8	72.7	3	27.3	11
<i>Endolimax nana</i>	9	81.8	4	36.4	6	54.5	11
<i>Giardia duodenalis</i>	11	100.0	10	90.9	10	90.9	11
<i>Chilomastix mesnili</i>	4	100.0	0	0.0	4	100.0	4
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	4	100.0	2	50.0	2	50.0	4
<i>Lodamoeba butschlii</i>	3	100.0	1	33.3	2	66.7	3
<b>Helmintos</b>							
<i>Ascaris lumbricoides</i>	7	100.0	4	57.1	1	14.3	7
<i>Hymenolepis nana</i>	5	100.0	3	60.0	2	40.0	5
<i>Enterobius vermicularis</i>	4	100.0	3	75.0	1	25.0	4
Uncinaria	3	100.0	2	66.7	0	0.0	3
<i>Trichuris trichiura</i>	1	100.0	0	0.0	0	0.0	1
<i>Fasciola hepatica</i>	1	100.0	0	0.0	0	0.0	1

Abreviaturas: TSET = Técnica de sedimentación espontánea en tubo.  $ZnSO_4$  = Método de flotación con sulfato de zinc.

Por otro lado, la TSET fue el método más efectivo en el diagnóstico de helmintos: detección de 100% de los casos. Dos muestras de heces positivas para huevos de *Trichuris trichiura* y *Fasciola hepatica* fueron también detectadas sólo mediante la técnica de sedimentación espontánea.

## Discusión

La TSET mostró mayor rendimiento en el diagnóstico de parásitos intestinales que el examen directo y la técnica de flotación con sulfato de zinc, utilizados como métodos de rutina en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología del Hospital de Emergencias Pediátricas de Lima, Perú. Estos hallazgos confirman la eficiencia del procedimiento de sedimentación espontánea sobre las dos técnicas con las que se comparó y otras convencionales, tales como el método de Ritchie,

reportadas en diversos estudios realizados en Perú.<sup>6-10</sup> En la TSET se utiliza mayor cantidad de muestra (2 a 5 g), lo que explicaría su mayor rendimiento en contraste con los otros métodos utilizados. Además, permite la sedimentación espontánea de los diferentes parásitos, evitando que se pierdan algunos durante el proceso de centrifugación. Asimismo, la principal ventaja de esta técnica es que los organismos permanecen viables y no hay distorsión de las formas parasitarias.

*Blastocystis hominis* fue identificado microscópicamente por la presencia de la forma vacuolar o de "cuerpo central" en el presente estudio. En general, los métodos de concentración son inadecuados para el diagnóstico de *B. hominis* debido a que éstos causan distorsión de la forma vacuolar, multivacuolar y granular del organismo.<sup>12</sup> No obstante, se ha sugerido que la sedimentación espontánea es un método apropiado para la separación de *B. hominis* de materia fecal,<sup>13</sup> lo cual ha sido confirmado por nuestro estudio y otra investigación realizada en Perú.<sup>10</sup> La baja sensibilidad de la técnica de flotación con sulfato de zinc en comparación con la TSET podría deberse a la hipertonidad del medio que tal vez ocasionaría la lisis de la forma vacuolar del parásito.

La técnica de sedimentación espontánea demuestra ser un método efectivo en el hallazgo de ooquistes de *Cyclospora cayetanensis*. Permitió maximizar la detección, lo cual es importante, sobre todo si se considera que la excreción de estos organismos es relativamente baja, incluso en pacientes sintomáticos no inmunes.<sup>14</sup> En efecto, la TSET se convierte en un método de concentración alternativo a las técnicas de flotación de Sheather y de sedimentación de etilacetato-formalina, que son las utilizadas en la actualidad, para el diagnóstico de este protozoo coccidio emergente.

Cabe resaltar que la TSET está siendo aplicada en el Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, así como en estudios de prevalencia de

parasitosis intestinal en diferentes comunidades urbanas y rurales de Perú, con una sensibilidad mayor que la mostrada por las técnicas convencionales.<sup>15-20</sup> Sin embargo, su adaptación en los hospitales y centros de salud de nuestro país aún no se ha llevado a cabo.

En conclusión, nuestros resultados confirman el alto rendimiento de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico tanto de protozoos como de helmintos. Además, debido a su simplicidad técnica, bajo costo y alta sensibilidad, se convierte en una alternativa aplicable en países en desarrollo, principalmente en los centros de salud.

## Referencias

1. Morrone F, Carneiro J, Reis C, Cardozo C, Ubal C et al. Study of enteroparasites infection frequency and chemotherapeutic agents used in pediatric patients in a community living in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2004; 46 (2): 77-80.
2. Savioli L, Bundy D, Tomkins A. Intestinal parasitic infection: a soluble public health problem. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992; 86: 355-354.
3. Koneman E, Allen S, Janda W, Scheckenberger P, Winn W. *Diagnóstico microbiológico*. 5a ed. México: Médica Panamericana, 1999.
4. Leventhal R, Cheadle R. *Parasitología médica*. 3a ed. México: Interamericana-Mc Graw-Hill, 1992.
5. Tello R. Empleo de una nueva técnica parasitológica rápida de sedimentación espontánea en el diagnóstico de protozoarios y helmintos (Resumen). V Jornadas Científicas. II Jornadas Científicas Estudiantiles, Lima-Perú. 1988, I-164.
6. Larragán M. Comparación de los principales métodos de diagnóstico para enteroparásitos. Tesis para optar el título de Médico Cirujano. Lima, Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 1993.
7. Vera L, Tello R, Terashima A, Álvarez H. Evaluación en campo de la técnica de sedimentación espontánea para el diagnóstico de enteroparásitos. IX Jornadas Científicas "Carlos Monge Casinelli". *Rev Med Hered* 1996; 7 (supl 1): 50.
8. Salas R, Rodríguez J. Evaluación de la técnica de sedimentación espontánea en el diagnóstico de enteroparásitos. III Congreso Peruano de Parasitología, 1997.
9. Maco V, Marcos L, Terashima A, Tello R, Samalvides F et al. Técnica de sedimentación espontánea en tubo (TSET): Alto rendimiento en el diagnóstico de parásitos intestinales en comparación con otras técnicas coproparasitológicas. *Rev Med Hered* 2001; 12 (supl 1): 111.
10. Alvino A. Estudio parasitológico en la comunidad de Huayopampa (Huaral) y comparación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo (TSET) con los métodos Faust y directo. Tesis para optar el título de Médico Cirujano. Lima, Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia, 2001.

11. Tello R, Canales M. Técnicas de diagnóstico de enfermedades causadas por enteroparásitos. *Diagnóstico* 2000; 39 (4): 197-198.
12. Stenzel D, Boreham P. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9 (4): 563-584.
13. Guimaraes S, Sogayar M. *Blastocystis hominis*: Occurrence in children and staff members of municipal day-care centers from Botucatu, São Paulo State, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1993; 88 (3): 427-429.
14. Herwaldt B. *Cyclospora cayetanensis*: A review, focusing on the outbreaks of cyclosporiasis in the 1990s. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 1040-1057.
15. Marcos L, Maco V, Machicado A, Samalvides F, Terashima A et al. Diferencias de prevalencia de parasitosis intestinal entre los Hospitales Militar y Regional de Iquitos, Loreto-Perú. *Diagnóstico* 2002; 41 (4): 185-187.
16. Maco V, Raymundo L, Terashima A, Samalvides F, Miranda E et al. Fas2-ELISA y la técnica de sedimentación rápida modificada por Lumbreras en el diagnóstico de la infección por *Fasciola hepatica*. *Rev Med Hered* 2002; 13: 49-57.
17. Marcos L, Maco V, Terashima A, Samalvides F, Gotuzzo E. Prevalencia de parasitosis intestinal en niños del valle del Mantaro, Jauja, Perú. *Rev Med Hered* 2002; 13 (3): 85-89.
18. Maco V, Marcos L, Terashima A, Samalvides F, Gotuzzo E. Distribución de la enteroparasitosis en el Altiplano Peruano: Estudio en 6 comunidades rurales del departamento de Puno, Perú. *Rev Gastroent Perú* 2002; 22: 304-309.
19. Marcos L, Maco V, Terashima A, Samalvides F, Miranda E, Gotuzzo E. Parasitosis intestinal en poblaciones urbana y rural en Sandia, Departamento de Puno, Perú. *Parasitol Latinoam* 2003; 58: 35-40.
20. Marcos L, Maco V, Terashima A, Samalvides F, Miranda E et al. Hiperendemicidad de Fasciolosis humana en el Valle del Mantaro, Perú: Factores de riesgo de la infección por *Fasciola hepatica*. *Rev Gastroent Perú* 2004; 24: 158-164.