

Comparación de dos nuevas técnicas de sedimentación y métodos convencionales para la recuperación de parásitos intestinales

Palabras clave: Técnicas de sedimentación, métodos coproparasitoscópicos, parásitos intestinales, etiología parasitaria, métodos diagnósticos, diagnóstico etiológico.

Key words: Sedimentation techniques, parasitological methods, intestinal parasites, parasitic etiology, diagnostics methods, etiologic diagnosis.

Recibido: 27/05/2012
Aceptado: 26/07/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medicgraphic.com/patologiaclinica>

José Manuel Aquino Mariano,* Gie Bele Vargas Sánchez,* Briceida López Martínez,** Enrique Neri Spinola,*** Rosamaría Bernal Redondo*

* Laboratorio de Parasitología, Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México «Federico Gómez» (HIMFG). México, D.F.

** Jefatura del Laboratorio Clínico, HIMFG. México D.F.

*** Mederik, Medical Appliances.

Correspondencia:

Dra. Rosamaría Bernal Redondo
Hospital Infantil de México «Federico Gómez».
Laboratorio Clínico
Dr. Márquez 162, Col. Doctores, 06720
México D.F.
Tel. 52289917 ext. 2377.
E-mail: bernalhim@yahoo.com.mx

233

Resumen

En México las parasitosis intestinales tienen una amplia distribución, están colocadas dentro de las primeras 20 causas de enfermedad; en clínicas y hospitales se tienen implementadas diversas técnicas coproparasitoscópicas (CPS) para su diagnóstico. El propósito de este estudio fue comparar la capacidad de recuperación de formas parasitarias entre cuatro técnicas CPS: el examen directo, la técnica de concentración por flotación Ferreira y nuevas técnicas de sedimentación Spin-CON® y Macro-CON®. Se recolectaron un total de 100 muestras de heces, de 87 pacientes con edad de uno a 19 años, 39 (45%) mujeres y 48 (55%) hombres. Se detectaron 70 (70%) muestras positivas para parásitos patógenos, tres (3%) con parásitos comensales y 27 (27%) negativas. El índice kappa entre el examen directo y las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® fue 0.44 y 0.42 (concordancia moderada). En Ferreira con Spin-CON® y Macro-CON®, 0.77 y 0.80 (concordancia buena). Entre Spin-CON® y Macro-CON®, concordancia muy buena (0.95). Las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® con sensibilidad de 94 y 97% frente al examen directo y Ferreira. Entre Spin-CON® y Macro-CON®,

Abstract

Intestinal parasites are widespread in Mexico, they are positioned in the first twenty motives of diseases. In clinics and hospitals there are many techniques for parasitological diagnosis. The aim of this study was to compare the capacity to recover the parasites among four parasitological techniques: direct smear, concentration procedures by flotation (Ferreira) and two new sedimentation methods Spin-CON® and Macro-CON®. A total of 100 fecal samples were analyzed from 87 patients, whose age was from one to nineteen years old. Thirty-nine (45%) females and forty-eight (55%) males. Seventy percentage were detected with pathogens parasites, 3% non-pathogens and 27% negative. Kappa index between direct smear and Spin-CON® and Macro-CON® was 0.44 and 0.42 (moderate concordance). Among Ferreira, Spin-CON® and Macro-CON® was 0.77 and 0.80 (well concordance). Between Spin-CON® and Macro-CON® a high concordance (0.95). Spin-CON® and Macro-CON® techniques had 94% sensitivity and 97% specificity over direct smear and flotation. To compare Spin-CON® and Macro-CON® the sensitivity and specificity were 97% and 100% respectively. The Spin-CON®

la sensibilidad fue de 97% y la especificidad de 100%. Las técnicas Spin-CON® y Macro-CON® tienen una mayor eficacia de recuperación que las técnicas convencionales, el examen directo y la técnica de flotación.

Introducción

Las parasitosis intestinales son un conjunto de padecimientos causados por protozoarios y helmintos del tubo digestivo, considerados un problema de salud pública. Alrededor de 3,500 millones de habitantes en el mundo están parasitados, entre ellos 450 millones padecen alguna enfermedad parasitaria intestinal, la mayor proporción corresponde a los niños.¹

En México las parasitosis intestinales se encuentran distribuidas en todo el país y están colocadas dentro de las primeras 20 causas de enfermedad; con tasas de 1,000 a 1,500 por 100,000 habitantes. Siguen siendo causa importante de enfermedad a pesar del programa de administración de antiparasitarios implementado a partir de 1995; las estadísticas describen que 49% de los niños y 53% de la población general se encuentran parasitados, según datos publicados en el Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud (SINAVE) de acuerdo al Código Internacional de Enfermedades (CIE).² Múltiples estudios muestran alta prevalencia de parasitosis intestinal en niños, sobre todo en edad preescolar y escolar, entre los cuales se ha registrado que 12% albergan dos o más parásitos. Esto representa un serio problema de salud pública en nuestro medio.^{3,4}

El diagnóstico etiológico se realiza, principalmente, con técnicas parasitológicas mediante la identificación morfométrica en heces; por lo tanto, es importante que el personal de los laboratorios clínicos maneje de forma habitual varios métodos coproparasitoscópicos (CPS) alternativos que apoyen el diagnóstico.⁵⁻⁷

Al ser tan frecuente el diagnóstico etiológico en clínicas y hospitales del país, en la mayoría de estos

and Macro-CON® methods had a better efficiency to recover parasites than conventional techniques such as direct smear and flotation concentration.

centros se tienen implementadas diversas técnicas CPS; dentro de ellas la técnica CPS directo en fresco es la más utilizada, que por su simpleza y bajo costo se ha convertido en una técnica universal; sin embargo, es poco sensible, 30 y 65%, dependiendo de la institución. Para aumentar la probabilidad de recuperación de parásitos en heces, se prefiere someter a una muestra fecal a una o más técnicas CPS de concentración, sobre todo cuando la carga parasitaria es baja.⁵

Las técnicas CPS de concentración se dividen en dos grupos: las de flotación, que emplean soluciones densas ($\delta > 1.0$) de modo que las formas parasitarias, después de la centrifugación, floten en el sobrenadante y las de sedimentación, que por el contrario utilizan soluciones menos densas ($\delta < 1.0$) en donde las formas parasitarias deberán buscarse en el sedimento, luego de la centrifugación.^{5,8}

El propósito de este estudio fue comparar la mayor capacidad de recuperación de formas parasitarias entre cuatro técnicas CPS: el examen CPS directo,^{9,11,12} la técnica CPS de concentración por flotación cuantitativa Ferreira 1:10,^{9,11,12} y las técnicas de concentración por sedimentación de Spin-CON® y Macro-CON® (Mederik, Medical Appliances),¹⁰ en niños que se atienden en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG).

Material y métodos

Muestras. Se analizaron 100 muestras de heces de 87 pacientes por cuatro técnicas coproparasitoscópicas (CPS): Examen directo, concentración por flotación Ferreira 1:10 y dos técnicas de concentración por sedimentación: Spin-CON® y Macro-CON®. El estudio se realizó en un periodo de marzo a julio del 2011. Los niños y niñas correspondieron a pacientes de la consulta externa de

pediatría, que acudían al HIMFG por varios motivos. Las técnicas de laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Parasitología del Laboratorio Clínico del mismo hospital.

Técnicas coproparasitoscópicas

CPS directo o en fresco: Técnica que permite localizar parásitos en una muestra de heces de 40 mg. Facilita la observación de formas móviles, como trofozoítos y larvas; prueba rápida, fácil y de bajo costo, pero con la desventaja de ser poco representativa del total de heces eliminadas por un individuo. *Técnica:* Colocar en cada extremo del portaobjeto una gota de solución salina y otra de lugol. Tomar con el aplicador de madera un poco de muestra (20 mg). Mezclar la muestra con la solución salina. Repetir el mismo procedimiento (otros 20 mg) con la gota de lugol. Colocar un cubreobjeto en cada preparación. Observar al microscopio (10X y 40X).^{9,11,12}

CPS de concentración por flotación cuantitativo Ferreira 1:10: Técnica que permite recuperar quistes y ooquistas de protozoarios, huevos y larvas de helmintos, mediante la utilización de solución de sulfato de zinc ($ZnSO_4$) con densidad de 1.19° Bé, que facilita la flotación de las estructuras parasitarias. Además, el empleo de un dispositivo (campana de Ferreira) hace posible la cuantificación de los huevos. *Técnica:* Homogeneizar 5 g de materia fecal con 45 mL de solución de formaldehído al 5%. Tamizar la muestra a través de una malla de alambre a un tubo de polietileno de 25 x 95 mm. Centrifugar a 2,000 rpm (600 x g) durante un minuto. Decantar el sobrenadante, resuspender el sedimento con 45 mL de agua de la llave, agitar y centrifugar. Repetir procedimiento hasta observar un sobrenadante claro. Agregar 10 mL de solución de sulfato de zinc ($ZnSO_4$) con densidad 1.19° Bé y resuspender el sedimento. Introducir la campana de Ferreira y llenar el tubo con sulfato de zinc hasta el borde de la rondana. Centrifugar a 2,000 rpm (600 x g) durante un minuto. Comprimir la banda

elástica de la campana y, sin dejar de presionar, retirarla del tubo. Invertir la campana y agregar una gota de lugol parasitológico. Mezclar el contenido de la banda elástica de la campana. Depositar la gota sobre el portaobjeto. Cubrir la preparación y observar al microscopio con objetivos 10X y 40X. Anotar el nombre completo del parásito y la fase que se observa. Reportar presencia o ausencia de protozoarios. Contar el número total de huevos en la preparación, multiplicar por cinco y reportar el número de huevos por gramo de heces (hgh).⁹

CPS de sedimentación Spin-CON® y Macro-CON®. Recolección de la muestra. Abrir el tubo que contiene el líquido conservador. Con la cuchara para depósito contenida en la tapa, poner pequeñas cucharaditas de heces en el tubo hasta que el contenido alcance la línea roja. Remover con la cuchara, cerrar y agitar vigorosamente a fin de que esté bien mezclado. Antes de procesar, dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente, de esta manera se obtiene una muestra de heces preservada (Inserto Para Pak Macro-CON®).¹⁰

Spin-CON®. Técnica coproparasitoscópica (CPS) que permite la recolección de quistes, ooquistas, huevos y larvas del sedimento de una muestra de heces preservada. *Técnica:* Añadir de ocho a diez gotas de surfactante por vial (Para-Pak®), cerrar y agitar vigorosamente durante 60 segundos, para obtener una muestra de heces preservada. Asegurar que el dispositivo Spin-CON® esté armado correctamente, con la mitad superior e inferior del tubo bien conectadas una a la otra, y que la rejilla primaria del embudo esté bien asentada en su lugar, en la mitad superior del tubo. Filtrar 3 mL de materia fecal preservada. Desechar la rejilla preliminar en un recipiente adecuado. Añadir 2 mL de solución salina fisiológica a la mitad superior del dispositivo Spin-CON®. Colocar el tapón en la parte superior y mezclar bien. Centrifugar durante diez minutos a 500 x g. Desechar la mitad superior del dispositivo Spin-CON®. Decantar el sobrenadante de la mitad inferior. Resuspender el sedimento en un volumen apropiado de formol al

5%. Hacer una preparación húmeda en solución salina y lugol. Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X.¹⁰

Macro-CON®. Técnica coproparasitoscópica (CPS) que permite la recolección de quistes, oocistos, huevos y larvas del sedimento de una muestra de heces preservada. *Técnica:* Añadir de ocho a diez gotas del surfactante por vial de Para-Pak®, cerrar el vial y agitar vigorosamente durante 60 segundos. Retirar el tapón e insertar el extremo abierto de la unidad de filtración Macro-CON® en el vial de la muestra, ejerciendo una leve presión hacia abajo, hasta que ésta quede firmemente asentada. Invertir el sistema Macro-CON® y permitir que se filtre la muestra a través de la malla, golpear con firmeza dos o tres veces para hacer que el líquido ingrese al tubo. Desenroscar y desechar la unidad de filtración del tubo cónico. Añadir formol al 5% hasta que el nivel de la muestra filtrada alcance la línea punteada. Añadir 5 mL de acetato de etilo, cerrar el tubo cónico con el tapón de rosca. Agitar vigorosamente durante 60 segundos, aflojar el tapón para liberar la presión y volver a ajustar. Centrifugar durante diez minutos a 500 x g. Decantar el sobrenadante y la capa de detritos. Resuspender el sedimento en un volumen apropiado de formol al 5%. La muestra que se va a examinar debe ser recogida de la mitad superior del material resuspendido. Hacer una preparación húmeda en solución salina y lugol. Observar al microscopio con objetivos 10X y 40X.¹⁰

Pruebas estadísticas. Razones y proporciones. Tablas de contingencia 2 x 2. Índice Kappa, concordancia entre dos variables dicotómicas. Kappa = proporción de concordancia observada (Po) – proporción de concordancia esperada (Pe)/1 - proporción de concordancia esperada (Pe). Po = $a + d/N$ Pe = $(rt) + (su)/N^2$

Sin concordancia < 1

Concordancia insignificante 0 – 0.2

Concordancia baja 0.2 – 0.4

Concordancia moderada 0.4 – 0.6

Concordancia buena 0.6 – 0.8

Concordancia muy buena 0.8 – 1.0

Concordancia perfecta 1.0

Prueba no paramétrica χ^2 . Valor de p < 0.05 considerado como el nivel crítico de significancia

Resultados

El total de la población estudiada fue de 100 muestras de heces, correspondientes a 87 pacientes, en un rango de edad de uno a 19 años. Veinte niños (23%) de uno a cuatro años, 18 (20.7%) de cinco a siete años, 24 (27.6%) de ocho a 12 años y 25 (28.7%) mayores de 12 años. Con un total de 39 (45%) mujeres y 48 (55%) hombres.

De las 100 muestras de heces procesadas se detectaron 70 (70%) positivas para parásitos patógenos, tres (3%) con parásitos comensales y 27 (27%) totalmente negativas. Al analizar la efectividad para recobrar parásitos de acuerdo con la técnica CPS empleada; la técnica Macro-CON® mostró el mayor rendimiento (70%), en comparación con Spin-CON (69%), Ferreira (68%) y examen directo (47%). No hubo diferencia significativa entre los tres primeros. Del total de muestras positivas a parásitos patógenos, 67% fue detectado mediante un examen directo, 97% por la técnica de concentración de flotación de Ferreira, 98% por la técnica de Spin-CON® y el 100% por la técnica de Macro-CON® (*cuadro I*).

Al considerar la capacidad de recuperación de las diferentes técnicas, independientemente de que se trate de parásitos patógenos o parásitos comensales, observamos que para el examen directo se recobraron 50 formas parasitarias (68%), del total de 73 que fue la mayor obtención. Cuando se empleó la técnica de flotación Ferreira, se lograron 71 (97%), para Spin-CON® 72 (99%), con Macro-CON 100%. Con diferencia significativa sólo con el examen directo (*cuadro II*).

La recuperación de las formas de cuerpo central o vacuoladas de *B. hominis* fue mayor con la técnica de flotación de Ferreira (85%), seguido por

Cuadro I. Positivos a formas parasitarias por cuatro técnicas.

	Examen directo (N = 70)		Ferreira 1:10 (N = 70)		Spin-CON® (N = 70)		Macro-CON® (N = 70)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Positivos patógenos	47	67	68	97	69	98	70	100
Negativos y comensales	53	76	32	46	31	44	30	43

Cuadro II. Positivos a organismos patógenos y/o comensales.

	Examen Directo	Ferreira 1:10	Spin-CON®	Macro-CON®
Positivos patógenos	47	68	69	70
Positivos comensales	3	3	3	3
	50/73 (68%)	71/73 (97%)	72/73 (99%)	73/73 (100%)
Negativos	50	29	28	27

Cuadro III. Frecuencias de parásitos por resultado positivo en cada técnica.

Parásito	Técnica CPS							
	Examen directo (N = 47)		Ferreira 1:10 (N = 68)		Spin-CON® (N = 69)		Macro-CON® (N = 70)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Blastocystis hominis</i>	33	70	58	85	53	77	55	78
<i>Giardia lamblia</i>	8	17	11	16	11	16	11	16
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	5	11	8	11	5	7	6	8.5
Helmintos	5	11	9	11	8	11	9	13
<i>Entamoeba coli</i>	9	19	20	29	16	23	16	23
<i>Endolimax nana</i>	9	19	22	32	19	27	19	27
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1	2	1	1	1	1	1	1

la técnica de Macro-CON® (78%) y Spin-CON® (77%); la de menor capacidad correspondió al examen directo (70%). Para el caso de *G. lamblia*, la mayor observación fue en el examen directo (17%) y valores de 16% para las tres técnicas de concentración. La obtención de quistes de *E. histolytica/E. dispar* fue similar por examen directo y técnica de Ferreira (11%), con 7% para Spin-CON® y 8.5% para Macro-CON®. Los huevos de helmintos fueron recobrados con el mismo porcentaje (11%) mediante examen directo, Ferreira y Spin-CON®, pero fue más alta (13%) con Macro-CON® (*cuadro III*).

Al considerar si la parasitosis fue única o múltiple, en el examen directo 70% correspondió a única y 30% a múltiple; en Ferreira 51% fueron única y 49% para múltiple; en Spin-CON® 60% única y 40% múltiple y en Macro-CON® 59% única y 41% múltiple (*cuadro IV*).

Al reportar los resultados de las muestras de heces con parasitosis múltiple, el examen directo concentró mayor número de casos con dos parásitos, para las observaciones con tres parásitos, Ferreira fue el que obtuvo mayor recuperación. La obtención fue igual para Ferreira y Spin-CON® en ocasión de cuatro parásitos. En cuanto a los

Cuadro IV. Parasitosis única y múltiple.

Examen directo (N = 50)		Ferreira 1:10 (N = 71)		Spin-CON® (N = 72)		Macro-CON® (N = 73)		
n	%	n	%	n	%	n	%	
Única	35	70	36	51	43	60	43	59
Múltiple	15	30	35	49	29	40	30	41

Cuadro V. Distribución de parasitosis múltiple.

	Examen directo	Ferreira 1:10	Spin-CON®	Macro-CON®
Única	35	36	43	43
2 parásitos	12	16	18	17
3 parásitos	1	16	9	12
4 parásitos	1	2	2	1
5 parásitos	1	1	0	0
Múltiple	15	35	29	30
Total	50	71	72	73

casos con cinco parásitos, sólo el examen directo y Ferreira recobraron uno (*cuadro V*).

238

El índice kappa para los resultados entre el examen directo y las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® fue 0.44 y 0.42, respectivamente, con clasificación de concordancia moderada. Entre Ferreira con Spin-CON® y Macro-CON®, el índice kappa fue mayor, 0.77 y 0.80, clasificado como concordancia buena. Al comparar el índice kappa entre Spin-CON® y Macro-CON®, el resultado de concordancia fue muy bueno (0.95). Las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® tuvieron una sensibilidad de 94 a 97% frente al examen directo y la técnica de concentración por flotación de Ferreira. La especificidad con examen directo fue 50% y con Ferreira 82%. Al comparar las técnicas de sedimentación de Spin-CON® y Macro-CON®, la sensibilidad fue de 97% y la especificidad de 100% (*cuadro VI*).

Al analizar el índice kappa para la concordancia de técnicas por especie de parásito, para el caso de *Blastocystis hominis*, el valor de Spin-CON® y Macro-CON® frente al examen directo fue de concordancia moderada (0.55 y 0.54), con

concordancia muy buena (0.92 y 0.93) frente a la técnica de Ferreira; de igual manera, cuando se compararon el Spin-CON® y el Macro-CON® (0.94). Cuando se trata de *Giardia lamblia*, la prueba de Spin-CON® y el Macro-CON® frente al examen directo, fue de concordancia muy buena (0.92 y 0.93) y una concordancia perfecta (1.0) frente a la técnica de Ferreira. Al revisar los casos de *Entamoeba histolytica/E. dispar*, las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® frente al examen directo mostraron una muy buena concordancia (1.0 y 0.90). Concordancia buena con la técnica de Ferreira (0.75 y 0.84). Entre las técnicas Spin-CON® y Macro-CON® muy buena concordancia (0.9). Para los helmintos las técnicas de Spin-CON® y Macro-CON® contra el examen directo dio una concordancia buena (0.75 y 0.69), contra Ferreira muy buena concordancia (0.93 y 1.0) igual entre las las técnicas de sedimentación (0.93) (*cuadro VII*).

Discusión

A lo largo del tiempo se han desarrollado diversas técnicas para el diagnóstico de los parásitos intestinales. Éstas han mejorado conforme el aumento de conocimientos sobre los ciclos de vida y la patogenia; además, la aparición de nuevas tecnologías han permitido la implementación de métodos con mayor sensibilidad y especificidad. Algunas técnicas abarcan la detección de varios parásitos; otras son específicas para un parásito o una fase parasitaria en particular. Sin embargo, no existe una técnica con eficacia de recuperación de 100%, que además sea de bajo costo y de fácil realización. Por tal razón, el diseño y experimentación de nuevas técnicas

Cuadro VI. Concordancia (Kappa) entre técnicas.				
Prueba referencia	Prueba diagnóstica	Índice Kappa	Sensibilidad	Especificidad
Examen Directo	Spin-CON	0.44	0.94	0.50
	Macro-CON	0.42	0.94	0.48
Ferreira 1:10	Spin-CON	0.77	0.94	0.82
	Macro-CON	0.80	0.95	0.82
Spin-CON	Macro-CON	0.95	0.97	1.00

Spin-CON y Macro-CON son marcas registradas (Spin-CON®, Macro-CON®).

Cuadro VII. Concordancia (Kappa) entre parásito y técnica.					
Parásito	Prueba referencia	Prueba diagnóstica	Índice Kappa*	Sensibilidad	Especificidad
<i>B. hominis</i>	Examen Directo	Spin-CON	0.55	0.93	0.71
		Macro-CON	0.54	0.93	0.70
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.92	0.98	0.93
		Macro-CON	0.93	1.00	0.94
<i>G. lamblia</i>	Examen Directo	Spin-CON	0.94	0.96	0.97
		Macro-CON	0.94	0.96	0.97
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.83	1.00	0.97
		Macro-CON	0.83	1.00	0.97
<i>E. histolytica/dispar</i>	Examen Directo	Spin-CON	1.00	1.00	1.00
		Macro-CON	1.00	1.00	1.00
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.90	1.00	0.98
		Macro-CON	0.75	0.62	1.00
Helmintos	Examen Directo	Spin-CON	0.84	0.75	1.00
		Macro-CON	0.90	0.83	1.00
	Ferreira 1:10	Spin-CON	0.75	1.00	0.96
		Macro-CON	0.69	1.00	0.95
	Spin-CON	Spin-CON	0.93	0.88	1.00
		Macro-CON	1.00	1.00	1.00

239

Spin-CON y Macro-CON son marcas registradas (Spin-CON®, Macro-CON®).

no ha llegado a su término y existe una búsqueda continua de nuevas metodologías que sean más eficaces, rápidas, sencillas y económicas.

El examen directo es fácil de realizar y económico, y en muchos laboratorios es lo único que se utiliza para el diagnóstico de las parasitosis intestinales. Existen estudios que muestran que ha sido más eficaz que algunas técnicas de concentración; sin embargo, posee una baja sensibilidad.¹³⁻¹⁵

La mayoría de los autores consideran que para obtener mayor recuperación de las formas para-

sitarias intestinales es necesario el empleo de una técnica de concentración. Entre éstas, las más utilizadas en los laboratorios de diagnóstico son dos grupos: concentración por sedimentación y concentración por flotación, con o sin el empleo de centrifugación. En este estudio se compararon un examen directo, una técnica de concentración por flotación y dos técnicas nuevas de concentración por sedimentación. Los resultados muestran una eficacia de 47% para el examen directo y mayor recuperación en las técnicas de sedimentación

(69 y 70%), contra la técnica de flotación (68%), con diferencia significativa entre el examen directo y las de concentración y sin diferencia significativa entre las tres técnicas de concentración.

El objetivo de este estudio fue comparar la capacidad de recuperación de formas parasitarias entre cuatro técnicas CPS, independientemente si se trataba de organismos patógenos y/o comensales del tubo digestivo. El examen directo recuperó más (68%) de mezcla de patógenos y no patógenos, 97% recuperado por Ferreira, 99% para Spin-CON® y 100% para Macro-CON®.

Una gran variedad de técnicas de sedimentación han sido utilizados para la recuperación de parásitos en heces; los procesos incluyen: ley de la gravedad, centrifugación y método químico. En los procesos donde se considera la ley de la gravedad tienen la ventaja de que el material biológico rescatado se conserva viable y la desventaja de obtener una preparación con muchos detritus fecales; dentro de este grupo, hasta la fecha, la más utilizada es la técnica espontánea de sedimentación.¹⁶ Cuando se emplean las técnicas de sedimentación por centrifugación se tiene un buen rescate de huevos operculados de trematodos, con la desventaja de obtener una preparación sucia con muchos desechos orgánicos. Por último, están las técnicas de sedimentación mediante un proceso químico. A este grupo pertenece la técnica de Ritchie que emplea formol y éter; resulta muy buena para el diagnóstico de quistes y ooquistas de protozoos, huevos y larvas de helmintos con poca distorsión sobre los huevos de helmintos, sólo daña la cubierta de *Hymenolepis nana*, con la desventaja de un sedimento sucio. El riesgo de explosión con el empleo de éter fue motivo para sustituir el éter por acetato de etilo,¹⁷ con la ventaja de poca distorsión en las estructuras, sedimento más limpio y sin riesgo de explosión.^{5,8,14,18-20}

Las técnicas de concentración por flotación tienen su origen en el empleo de soluciones saturadas de cloruro de sodio, glucosa, sacarosa y más recientemente sulfato de zinc, soluciones que presentan una

densidad (δ) mayor de uno, entre 1.10 a 1.20 Bé, que facilitan la flotación de las estructuras parasitarias y pueden ser recogidas en el sobrenadante del tubo. Dentro de ellas, las más utilizadas son: la técnica de Willis (salmuera), la técnica de Sheather (sacarosa), la de Faust y Ferreira (sulfato de zinc). En la actualidad la técnica de Faust es recomendada por la CLSI para el diagnóstico en los laboratorios clínicos.^{3,9,18}

Existen reportes que recomiendan realizar al menos una técnica de sedimentación y una de flotación para maximizar la efectividad del diagnóstico coproparasitológico.⁵ Sin embargo, existen pocos trabajos a cerca del uso de la técnica de Ferreira, la cual presenta una capacidad de recuperación excelente, que emplea materiales reutilizables, haciéndola económica, además de permitir el conteo de huevos de helmintos. Esta técnica puede ser una buena opción si se desea implementar en un laboratorio clínico de parasitología, con la desventaja de utilizar la campana de Ferreira, la cual requiere de una manufactura especial.^{15,21}

Las dos técnicas nuevas de sedimentación, presentadas en este estudio, Spin-CON® y Macro-CON®, corresponden a las técnicas de concentración por sedimentación mediante un proceso químico; son técnicas sencillas y de fácil realización. Para Spin-CON®, sin embargo, al momento de observar al microscopio, las muestras se ven sucias, lo que impide una buena lectura. Esto tal vez sea debido al hecho de que no se realizan lavados. Contrario al caso anterior, al usar Macro-CON®, las muestras se ven limpias, incluso más que al utilizar Ferreira en la que se realizan varios lavados; esto tal vez debido al uso del acetato de etilo que actúa como saponificante, ayuda a eliminar las grasas y detritos, que facilita la observación de formas parasitarias en el fondo de la suspensión. En ambas técnicas hay una buena capacidad de concentración al momento de la observación. Un aspecto importante es el vial de recolección de la muestra del que parten ambas técnicas, pero difieren en la cantidad de muestra del vial que utilizan; Spin-CON® emplea sólo tres mililitros (3 mL)

mientras que Macro-CON® usa todo el vial. A pesar de estas diferencias en la cantidad de muestra, los resultados dieron un comportamiento similar en la recuperación de los parásitos. Este vial que contiene un fijador/conservador podría empezar el proceso de concentración antes de la centrifugación.¹⁰ Estas técnicas son fáciles de realizar, pero el hecho de que empleen material desechable podría elevar los costos si se analiza una gran cantidad de muestras diariamente.

El análisis de resultados por parásito señala a *Blastocystis hominis* como el más frecuente, seguido de *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica/E. dispar* y pocos casos de helmintos, esto probablemente porque el estudio se realizó en un hospital de atención de tercer nivel con un gran número de pacientes inmunocomprometidos, en donde las protozoosis son mucho más frecuentes que las helmintiosis (*cuadro II*). Para realizar la comparación de resultados de mayor recuperación de acuerdo con la técnica empleada, se consideran también los parásitos comensales del tubo digestivo, *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* y *Iodamoeba butschlii*. En el caso de *Blastocystis hominis* algunos autores^{5,13,14} han encontrado que es mejor el examen directo para su detección, ya que con el uso de una técnica de concentración este parásito pudiera deformarse o destruirse con la centrifugación. Los resultados obtenidos en este estudio son contrarios, ya que las tres técnicas de concentración utilizadas fueron superiores al examen directo, con diferencia significativa y un porcentaje de recuperación superior de la técnica de flotación que las de sedimentación (*cuadro II*). En la recuperación de quistes de *Giardia lamblia* no existió diferencia significativa entre las tres técnicas de concentración, sólo diferencia con el examen directo. Para los comensales *E. coli*, *E. nana* y *I. butschlii*, la recuperación también fue mayor en las técnicas de concentración y entre ellas la mayor fue la de flotación. Este hecho podría explicarse por la utilización del vial de recolección de la muestra.²²⁻²⁴ En este estudio las helmintiosis fueron escasas, los resultados mostraron la más

alta recuperación en la técnica de flotación y en el Macro-CON®, sin diferencia significativa con la técnica de Spin-CON®.

En conclusión, los resultados muestran que el empleo de las técnicas de sedimentación de Spin-CON® y Macro-CON® tienen una mayor eficacia comparada con técnicas convencionales de uso frecuente en los laboratorios como el examen directo y la técnica de flotación; a pesar de no tener una diferencia significativa con la técnica de flotación de Ferreira. Asimismo, se destaca que permanece vigente la construcción de nuevas técnicas CPS que permitan la recuperación de formas parasitarias y que su diseño sea cada vez más práctico y de menor costo, para poder implementarse en todos los laboratorios de diagnóstico de las diferentes regiones del país, esto con el propósito de ofrecer un servicio de alta calidad. Los resultados del trabajo nos autorizan a sugerir que, para la mejor recuperación de estructuras parasitarias, se lleven a cabo las técnicas CPS de concentración por sedimentación o flotación con buena sensibilidad para protozoarios y/o helmintos. Que la técnica de examen directo es recomendable para la identificación de las fases móviles (trofozoítos y larvas) y que además de manera habitual debe agregarse una tinción de Kinyoun para la identificación de coccidias intestinales; por este medio se cubre la más amplia probabilidad de recuperar e identificar todos los parásitos intestinales.

241

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a los compañeros del Laboratorio de Parasitología del Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de México «Federico Gómez», por su colaboración en la realización de este trabajo

Referencias

1. Ximénez-García C. Las parasitosis intestinales en México. Cuadernos Funsalud (Fundación Mexicana para la Salud, A.C.) 2002; No. 36.

2. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Sistema Único Información No. 20, Vol. 20, Semana 20, 2003.
3. Quihui-Cota L, Valencia ME, Crompton DWT, Phillips S, Hagan P, Díaz-Camacho SP et al. Prevalence and intensity of intestinal parasitic infections in relation to nutritional status in Mexican schoolchildren. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2004; 98: 653-659.
4. Ávila-Rodríguez EH, Ávila-Rodríguez A, Araujo-Contreras JM, Villareal-Martínez A, Douglas T. Factores asociados a parasitosis intestinal en niños de la consulta ambulatoria de un hospital asistencial. *Rev Mex Pediatr* 2007; 74 (1): 5-8.
5. Navone GT, Gamboa MI, Kozubsky LE, Costas ME, Cardozo MS et al. Estudio comparativo de recuperación de formas parasitarias por tres diferentes métodos de enriquecimiento coproparasitológico. *Parasitol Latinoam FLAP* 2005; 60: 178-181.
6. Sánchez-Rivera GL, Díaz-Ruiz MG, Rojas-Tinoco ME. Estudio comparativo entre el método coproparasitoscópico de concentración por flotación de Faust y el método coproparasitoscópico de concentración por sedimentación con Brij-35. *Bioquímia* 2006; 31 (supl A): 90.
7. Parija SC, Srinivasa H. The neglect of stool microscopy for intestinal parasites and possible solutions. *Trop Med Int Health* 1999; 4 (7): 522-524.
8. Truant A, Elliott SH, Kelly MT, Smith JH. Comparison of formalin-ethyl ether sedimentation, formalin-ethyl acetate sedimentation, and zinc sulfate flotation techniques for detection of intestinal parasites. *J Clin Microbiology* 1981; 13 (5): 882-884.
9. Salazar SPM. Diagnóstico morfológico de las parasitosis. 3a ed. México: Méndez Editores; 2011.
10. <http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/Files/2.11%20Para-Pak/EcoFix/Package-Insert-ECOFIX.pdf>. <http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/Files/2.11%20Para-Pak/Spin%20Con%202000/Package-Insert-Para-Pak-SpinCon200.pdf>. <http://www.meridianbioscience.com/Content/Assets/Files/2.11%20Para-Pak/MacroCON/Package-Insert-Macro-CON.pdf>
11. García LS, Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology. 4th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2003.
12. García LS, Bullock-Iacullo SL et al. Procedures for the recovery and identification of parasites from the intestinal tract; approved guideline. Pennsylvania, USA: Clinical Standard Laboratory Institute (CSLI); 2005.
13. Devera R, Blanco Y, Requena I, Velásquez V. Diagnóstico de *Blastocystis hominis*: Bajo rendimiento de los métodos de concentración de formol-éter y sedimentación espontánea. *Rev Biomed* 2006; 17: 231-233.
14. Mendoza D, Núñez FA, Escobedo A, Pelayo L, Fernández M, Torres D, Cordoví RA. Utilidad de 2 métodos coproparasitológicos y su empleo en un ensayo terapéutico antigiardiásico. *Rev Cub Med Trop* 2003; 55 (3): 174-178.
15. Bernal-Redondo R, Hernández-Sánchez G, Ramírez-Hernández EC, Gámez-Aranda A, Martínez-Méndez L. Protozoos emergentes. Comparación de tres métodos de identificación. *Rev Mex Patol Clin* 1998; 45 (4): 193-199.
16. Tello R, Canales M. Técnicas de diagnóstico de enfermedades causadas por enteropárasitos. *Diagnóstico* 2000; 39: 197-198.
17. Young KH, Bullock SL, Melvin DM, Spruill CL. Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. *J Microbiology* 1979; 10 (6): 852-853.
18. Rodríguez-Ulloa C, Rivera-Jacinto M. ELISA y técnica de sedimentación espontánea para el diagnóstico de infección por *Giardia lamblia* en muestras fecales de niños de Perú. *Sal Pub Mex* 2011; 53 (6): 516-519.
19. Terashima A, Marcos L, Maco V, Canales M, Samalvides F, Tello R. Técnica de sedimentación en tubo de alta sensibilidad para el diagnóstico de parásitos intestinales. *Rev Gastroenterol* 2009; 29 (4): 305-310.
20. Pajuelo-Camacho G, Luján-Roca D, Paredes-Pérez B, Tello-Casanova R. Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parasitosis intestinales. *Rev Biomed* 2006; 17: 96-101.
21. Bernal-Redondo R, Ramírez-Hernández E, Suárez-Torres, B, Hernández-Elizalde MA, Rodríguez-Monroy MC, Ruiz-Cervantes D, Vargas-Sánchez GB. *Blastocystis hominis*: Identificación etiológica en microscopía de luz. *Rev Noticonaúquic* 2011; 55: 44-48.
22. Nuñez F, González O, Bravo J, Escobedo A, González I. Parasitosis intestinales en niños ingresados en el Hospital Universitario Pediátrico del Cerro, La Habana, Cuba. *Rev Med Trop* 2003; 55 (1): 19-26.
23. 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 FLAP* 2003; 58: 35-40.
24. Velarde del Río LT, Mendoza-Romo MA. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en menores de 12 años de una población mexicana urbana. *Rev Cub Pediatr* 2006; 78 (4): 33-39.