



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN PARA EL
DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS
MÁS FRECUENTES EN EL HOMBRE

T E S I N A
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
B I O L O G O
PRESENTA:
DAVID VILLALOS GARCÍA

ASESORA DE TESINA. M EN C. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS

TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS

*Quiero agradecer a la reina y madre de las universidades, la **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO** quien me dio el privilegio de formar parte de su gloriosa educación y me formo como profesionista, y a partir de hoy, me siento como uno de sus hijos caracterizado por llevar la sangre azul y portar la piel dorada, teniendo en el pecho un águila y un cóndor con sus alas extendidas gritando **POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU**.*

También agradezco a mis profesores quienes me han dado los conocimientos para poder destacar y pelear en mi vida profesional como biólogo.

Agradezco especialmente a mis asesores: Dr. Sergio Vaca Pacheco, M en C. Gloria Luz Paniagua Contreras, M en C. Eric Monroy Pérez, Dr. Sergio Chazaro Olvera y Biol. Susana Esther González Almanza que me ayudaron y apoyaron a concluir este trabajo profesional.

Gracias: Universidad Nacional Autónoma de México

DEDICATORIAS

Con todo mi cariño y amor a mis padres:

Sra: Angelina García Gallardo

Sr: Mario Villalobos Sánchez

Porque a base de sacrificios y amor, lograron hacer de mi un profesionalista y una persona de bien.

Con todo mi amor a mis abuelos:

Ursula Sánchez Orozco y que en paz descansen a mi abuelita Angelina y mis abuelos Roberto García y Juan morales.

Quienes me llenaron de sabios consejos.

Con toda mi alma y amor a mi nueva familia.

A mi esposa Ivette Cristina Meléndez Piza y a mi hijo Daniel Villalobos Meléndez.

Por ser mi fuerza para salir adelante y quienes forman parte de mi corazón.

A mis suegros con mucho aprecio y cariño

Sra.: Maria de Lourdes piza Lopez

Sr: Luis Carlos Meléndez Lecuona

Por haberme apoyado en el cuidado de mi hijo Daniel en el transcurso de mi carrera y los responsables de llenar de bendiciones a mi hijo.

A mis cuñados:

Srta: Nelly Adriana Meléndez Piza

Joven: Carlos Alberto Meléndez Piza

Quienes suelen ser los segundos padres de Daniel.

A mis hermanos con mucho cariño:

3er maestre labta. Roberto Villalobos García y a su respetable esposa Mirna Lorena Rodríguez Gallegos

C.P Juan Carlos Villalobos García

Julio Cesar Villalobos Ramírez

Biol. Moisés Sánchez Villalobos

Con quienes pase momentos agradables en el transcurso de mi carrera.

A mis amigos con mucho afecto:

T.L.C. Luis Alberto Toledo

Quien formo parte de mi formación como laboratorista y me proporciono realizar mis prácticas en su laboratorio de análisis

PENSAMIENTOS

¿Acaso tu mamá fue mala contigo?

¡Porque te puedo asegurar que la mía lo era...!

Es más... ¡Yo tuve la madre mas malvada de todas!

Mientras que otros niños comían dulces en el desayuno, nosotros teníamos que comer cereal, huevos y leche.

Mientras que otros niños llevaban una gaseosa y un alfajor para el recreo, nosotros llevábamos sándwiches caseros.

(Ya te imaginarás que la comida que nos preparaba mi madre era totalmente diferente a la que comían otros niños).

Mi madre insistía en saber donde estábamos a todas horas. Se diría que éramos prisioneros. Ella tenía que saber quiénes eran nuestros amigos y que era lo que hacíamos cuando estábamos con ellos. Además insistía en que si decíamos que íbamos a estar fuera una hora, teníamos que regresar a la casa en una hora o menos.

Aunque a mi y a mis hermanos nos avergonzaba admitirlo, nuestra madre violaba la Ley del Trabajo de Menores y nos hacía lavar los platos, tender las camas, aprender a cocinar, barrer el piso, lavar nuestra ropa, tirar la basura, lavar la terraza de los perros y todo tipo de trabajos inhumanos. Es más, todos los hermanos pensábamos que se pasaba las noches en vela, inventando nuevas cosas que nos iba a obligar a hacer al día siguiente.

Siempre nos molestaba con que teníamos que decir siempre la verdad. Es más, creo que cuando éramos adolescentes era capaz de leer nuestra mente.

¡Y después las cosas se pusieron peores! Mi madre nunca permitió que nuestros amigos sencillamente tocaran la bocina del coche cuando estaban frente a la casa para que saliéramos. ¡¡No!! ¡Tenían que entrar a casa para que ella pudiera conocerlos...!

Mientras que todos mis conocidos podían salir con sus "amigas" y "amigos" desde los 12 o 13 años; nosotros teníamos que esperar hasta haber cumplido los 16 años.

Es triste decirlo; pero por culpa de nuestra madre perdimos muchísimas experiencias que otros jóvenes normales pueden vivir...

A ninguno de nosotros nos sorprendieron robando algo en el almacén, o dañando propiedad ajena; es más, ni siquiera nos arrestaron por algún crimen menor. Eso fue culpa de mi madre.

Y ahora que ya no vivimos con mamá, todos nosotros somos adultos honestos y responsables. Y tengo que reconocerlo todos estamos haciendo nuestro mejor esfuerzo para ser malos con nuestros hijos, tal y como mamá lo fue con nosotros.

A decir verdad; creo que eso es lo que esta mal con el mundo... ya no hay suficientes malas madres...

Mi hijo nació hace pocos días, llegó a este mundo de una manera normal... Pero yo tenía que viajar, tenía tantos compromisos...!

Mi hijo aprendió a comer cuando menos lo esperaba, comenzó a hablar cuando yo no estaba...

¡¡¡Cómo creció mi hijo de rápido... cómo pasa el tiempo!!!

Mi hijo, a medida que crecía, me decía: Papi, algún día seré como tú.... ¿Cuándo regresas a casa, Papi?...

No lo sé hijo, pero cuando regrese jugaremos juntos... ya lo verás...

Mi hijo cumplió 10 años hace poco días y me dijo... ¡Gracias papi por la pelota! ¿Quieres jugar conmigo?.. Hoy no hijito... tengo mucho que hacer .Está bien papi, otro día será... te quiero mucho papi... Se fue sonriendo, siempre en sus labios tenía la frase "YO QUIERO SER COMO TÚ, PAPI" ...¿Cuándo regresas a casa Papi?... No lo sé hijo, pero cuando regrese jugaremos juntos... ya lo verás...

Mi hijo ingresó a la universidad el otro día, todo un hombre....-¡Hijito estoy orgulloso de ti, siéntate y hablemos un poco de ti... -Hoy no Papi, tengo compromisos, por favor dame algo de dinero para visitar algunos amigos-

Ya me jubilé y mi hijo vive en otro lugar.. Hoy lo llamé, y... ¡Hola hijo, me gustaría verte!... Me encantaría Padre, pero es que no tengo tiempo... tú sabes, mi trabajo, los niños... Pero gracias por llamarme, fue hermoso oír tu voz"...

Al colgar el teléfono me di cuenta que mi hijo... "ERA COMO YO".

ÍNDICE GENERAL

Introducción.....	3
Justificación.....	7
Objetivo general.....	9
Objetivos particulares.....	9
Metodología.....	10
Obtención del material para examen y análisis de materia fecal para los métodos de coproanálisis.....	10
Recolección, transporte y procesamiento de muestras.....	11
Examen visual de las heces.....	11
Exámen coproparasitoscópico.....	13
Método de concentración por flotación (FAUST).....	14
Método coproparasitoscópico de concentración por flotación por (WILLIS)....	16
Concentración por sedimentación (RITCHE).....	18
Coproparasitoscópico cuantitativo (STOLL).....	21
Coproparasitoscópico cualitativo (KATO-MIURA).....	24
Método cuantitativo (KATO-KATZ).....	27
Técnica de Ferreira 1:10.....	28
Técnica de GRAHAM.....	32
Técnica de Baerman para la identificación de RHABDITIS.....	33
Método especial de HARADA-MORI.....	35
Cucharilla rectal.....	36
Método de cultivo de BOECK-DRBOHLAV.....	39
Concentración-Aclaramiento-Tinción (CONATIN).....	41
Técnica de flotación de Shecither para la recuperación de ooquistes de <i>Cryptosporidium</i> en muestras fecales.....	44
Muestras extraintestinales.....	45
Método de concentración para microfilarias.....	48
Preservación de muestras clínicas.....	48
Diagnóstico serológico de las infecciones parasitarias.....	52
Ensayo inmunoenzimático (ELISA).....	59
Anticuerpos Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (Clase IgM, equipo comercial).....	60
Anticuerpos Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (Clase IgG, equipo comercial).....	61
Anticuerpos Anti- <i>Entamoeba histilytica</i> (Clase IgG, equipo comercial).....	61

Captura de antígeno de <i>Giardia lamblia</i> , equipo comercial LMD.....	62
Métodos de identificación para el diagnóstico de las enfermedades Parasitarias más comunes en el hombre.....	63
Atlas de las formas parasitarias más comunes en el hombre.....	63
Bibliografía.....	72

MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS PARASITOSIS MÁS FRECUENTES EN EL HOMBRE

INTRODUCCION

Se sabe que las enfermedades parasitarias han producido a través de los tiempos más muerte y daño económico que todas las guerras juntas. Generalmente son los países con poco o nulo desarrollo socio-económico donde las enfermedades parasitarias y la parasitosis se presentan con mayor frecuencia, viéndose favorecido esto por las condiciones climáticas, cálidas o templadas y por la falta de cultura médica en el pueblo; en comparación, en los países desarrollados social, médica y económicamente, las enfermedades parasitarias han sido erradicadas o son menos frecuentes (13).

El parasitismo que es principalmente el resultado de las interrelaciones entre dos seres vivos, uno denominado *parásito* y el otro *huésped u hospedero*, también es influido por las interacciones de los seres vivos antes mencionados y el medio ambiente que constituyen la ecología del parasitismo (13).

El parasitismo intestinal se presenta cuando una especie vive dentro del huésped, en el tracto intestinal. El parásito compete por el consumo de sustancias alimentarias que ingiere el huésped, o como en el caso del anquilostoma, este se nutre de la sangre del huésped, adhiriéndose a la pared del intestino (5).

Los principales parásitos intestinales presentes en la materia fecal de los humanos son:

PROTOZOARIOS: organismos microscópicos, constituidos por membrana nuclear y en su interior el material nuclear constituido por DNA y RNA, formado por nucleolos, endosomas, cariosomas o centríolos, con características definidas y posición definida que les da una importancia taxonómica relevante. Los protozoarios se presentan en la naturaleza fundamentalmente bajo 2 formas fisiológicas principales, **trofozoito**, también llamada forma vegetativa, el

cual es móvil ya sea mediante flagelos, pseudopodos, cilios, etc., según sea el caso. La segunda forma es el **quist** o forma de resistencia inmóvil y con baja actividad metabólica. Algunos protozoarios pueden ser no patógenos, pero en algunos casos (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Blastocystis hominis*, etc.) pueden provocar un cuadro clínico en los que destaca desintería, pérdida de peso, deshidratación, malestar general por mencionar algunos, así como la invasión de otros órganos provocando inflamación y necrosis (6).

NEMATODOS: son gusanos cilíndricos (**fusiformes:** con extremo romo, puntiagudo o combinación de los dos, **filiformes:** extraordinariamente delgados y largos. **Intermedia:** combinación de los dos anteriores). También de simetría bilateral y radial, no segmentados, Entre ellos se presenta uniformidad en su organización estructural, la cual es relativamente sencilla. Son de color blanquecino, rosado o amarillento. Los nemátodos son dioicos, es decir, de sexos separados y generalmente el macho es más pequeño que la hembra (Aties, 1994).El ciclo de vida de los nemátodos es muy variable

e interesante en las diferentes etapas: **huevo, larva, adulto**, en los distintos grupos. Algunos nemátodos pueden infectar varios mamíferos que son intermediarios y definitivos al mismo tiempo. Esta clase de parásito puede hacer que se presente en el huésped; peristaltismo intestinal, nerviosismo, cefálea, insomnio, anorexia, dolor del cuadrante superior derecho, vómitos, diarrea crónica, anemia en algunos casos y daño a órganos provocados por la migración de larvas. Los nemátodos más comunes son: ***Ascaris lumbricoides*** que es el parásito conocido como limbriz intestinal grande del ser humano, ***Trichuris trichura***, es el parásito conocido como tricocéfalo, ***Ancylostoma duodenale*** y ***Necator americanus*** son los parásitos conocidos como anquilostomas.

PLATELMINTOS: (generalmente céstodos): los platelmintos o gusanos planos segmentados. Su tamaño varía desde unos cuantos milímetros, hasta unos 20 metros como ciertos céstodos, sin embargo, la mayoría son pequeños, de no más de uno o dos centímetros. Generan con su estancia dentro del huésped anorexia, baja de peso, síntomas digestivos, prurito anal, dolor abdominal, etc (13). Los principales platelmintos son ***Taenia saginata*** (de la carne de res) y ***Taenia solium*** (de la carne de cerdo). La infección por las taenias adultos

pueden producir en las personas, nervisismo, problemas para conciliar el sueño, falta de apetito, pérdida de peso, dolores abdominales y trastornos digestivos (12).

La forma de infección de dichos parásitos se da por contaminación de materia fecal en los alimentos, el agua de beber, frutas y verduras. También pueden transmitirse por vectores (artrópodos) o manos sucias de los manipuladores de alimentos (6).

Es muy común considerar que las enfermedades parasitarias representan un problema simple desde el punto de vista de diagnóstico; sin embargo, pueden llegar a constituir serios problemas de diagnóstico diferencial; muchas veces no se considera la posibilidad de etiología parasitaria entre las alternativas de diagnóstico en un paciente o no se recuerdan con claridad los procedimientos más apropiados para establecerlo.

El diagnóstico de las infecciones por parásitos depende en gran parte de procedimientos de laboratorio que sirven para establecer, confirmar o descartar un diagnóstico realizado en bases clínicas. El diagnóstico por el laboratorio de las parasitosis generalmente se confirma por el hallazgo directo del parásito, o por la detección de la respuesta inmune que provoca siendo importante por lo tanto el empleo de las mejores técnicas y de personal debidamente capacitado, cuidadoso y que disponga de los medios y el tiempo necesario para realizarlos.

Las muestras destinadas a fines de diagnóstico deben de obtenerse y manejarse de tal manera que en caso de existan parásitos, lleguen al laboratorio en un estado que permita su identificación (3).

Se definen como los métodos para la detección e identificación de parásitos en materia fecal y/o en los tejidos del tubo digestivo y se les denomina como exámenes coproparasitoscópicos, la utilidad de cada uno de ellos es variable y depende de muchos factores; el examen directo por ejemplo es el procedimiento técnicamente más sencillo, rápido y económico; sin embargo las tinciones especiales pueden identificar con mayor seguridad al

género y a la especie de microorganismo algunas características del ciclo biológico del parásito: oviposición en los márgenes del ano (*Enterobius vermicularis*); termotropismo (*Balactidium coli*); localización anatómica (*Strongyloides stercoralis*); peso y tamaño del parásito (huevos de *Fasciola hepática*); la necesidad de evaluar el grado de infección (tricocefalosis, uncinariasis), etc., originan la necesidad de contar con diversos métodos parasitológicos (3).

JUSTIFICACION

Es muy común considerar que las enfermedades parasitarias representan un problema simple desde el punto de vista de diagnóstico; sin embargo, pueden llegar a constituir serias complicaciones de diagnóstico diferencial; muchas veces no se considera la posibilidad de etiología parasitaria entre las alternativas de diagnóstico en un paciente o no se recuerdan con claridad los procedimientos más apropiados para establecerlo.

El diagnóstico de las infecciones por parásitos depende en gran parte de procedimientos de laboratorio que sirven para establecer, confirmar o descartar un diagnóstico realizado en bases clínicas. El diagnóstico por el laboratorio de las parasitosis generalmente se confirma por el hallazgo directo del parásito, o por la detección de la respuesta inmune que provoca, siendo importante por lo tanto el empleo de las mejores técnicas y de personal debidamente capacitado, cuidadoso y que disponga de los medios y el tiempo necesario para realizarlos.

Se definen como los métodos para la detección e identificación de parásitos en materia fecal y/o en los tejidos del tubo digestivo y se les denomina como exámenes coproparasitoscópicos, la utilidad de cada uno de ellos es variable y depende de muchos factores; el examen directo por ejemplo es el procedimiento técnicamente más sencillo, rápido y económico; sin embargo las tinciones especiales pueden identificar con mayor seguridad al género y la especie de microorganismo y algunas características del ciclo biológico del parásito: oviposición en los márgenes del ano (*Enterobius vermicularis*); termotropismo (*Balactidium coli*); localización anatómica (*Strongyloides stercoralis*); peso y tamaño del parásito (huevos de *Fasciola hepatica*); la necesidad de evaluar el grado de infección (tricocefalosis, uncinariasis), etc., originan la necesidad de contar con diversos métodos parasitoscópicos (6).

El diagnóstico de los agentes causales de las parasitosis es importante por la amplia distribución que tienen en el mundo, siendo los viajeros e inmigrantes que se desplazan de un área endémica a otra de baja o nula

endemicidad. Muy importantes son los hábitos alimenticios, por la influencia de tradición cultural en la preparación de alimentos y por la introducción de alimentos importados.

De tal manera que resulta importante que tanto el personal de laboratorio como el médico solicitante, conozcan los recursos de diagnóstico útiles en diferentes parasitosis.

En este documento se realizará una exposición detallada para conocer las diferentes técnicas de laboratorio útiles para el diagnóstico de las enfermedades parasitarias, además de documentarse con un Atlas de los parásitos aquí mencionados.

OBJETIVO GENERAL

- Conocer las diferentes técnicas que se utilizan para la identificación de los parásitos que infestan al hombre.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Desarrollar las técnicas parasitológicas para identificar parásitos intestinales.
- Exponer las diferentes técnicas para el diagnóstico de parásitos extraintestinales.
- Conocer los diferentes métodos para la conservación y preservación de muestras fecales.
- Los parásitos como estimuladores en la formación de anticuerpos.

METODOLOGÍA

OBTENCIÓN DE MATERIAL PARA EXAMEN Y ANÁLISIS DE MATERIA FECAL PARA LOS MÉTODOS DE COPROANÁLISIS

HECES

Deben recogerse en un recipiente seco, limpio, sin orina. Las heces de pacientes que reciben bario, bismuto, aceite o antibióticos, no son satisfactorias para identificar protozoarios. Hay que examinarlas antes de la administración de bario, bismuto, o no menos de una semana después de haberlos usado. Las muestras formadas son mejores cuando se buscan quistes de protozoarios, pero las líquidas, sean diarreicas o después de un purgante salino, son mejores para identificar trofozoitos. Las muestras líquidas o semilíquidas deben examinarse de inmediato o ser conservadas. Los frotis fecales delgados o muestras poco voluminosas de heces líquidas pueden preservarse con el colorante fijador MIF o con alcohol polivinílico en la solución de Schaudinn para su examen posterior. En las heces pueden ser expulsados *Ascaris lumbricoides* adultos, fragmentos de *D. latum*, estróbilos y proglotidos de *Tenia* sp. Los oxiuros adultos llegan a observarse fuera de las heces o eventualmente en muestras diarreicas.

La mayoría de los huevos de helmintos son identificables durante varios días después de salir con las heces.

A veces, el contenido duodenal revela *Giardia*, larvas de *Strongyloides* y huevos de *Clonorchis* que no son reconocidos en las heces. Las muestras obtenidas por sondeo duodenal deben dejarse sedimentar o centrifugarse, examinándose el sedimento en frotis directo (10).

RECOLECCION, TRANSPORTE Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Como con el estudio de otros microorganismos en el laboratorio, deben recolectarse muestras apropiadas de los pacientes y transportarse al laboratorio, suficientemente preservadas para permitir la detección e identificación de cualquier forma parasitaria. El diagnóstico de las infecciones parasitarias se apoya, en gran parte, en el examen macroscópico o microscópico de heces, orina, sangre, esputo y tejidos. La implementación de técnicas de procesamiento de laboratorio confiables es un paso integral en el estudio. No es posible revisar más que unos pocos procedimientos de laboratorio utilizados habitualmente para la recuperación e identificación de formas parasitarias en las muestras clínicas.

EXAMEN VISUAL DE LAS HECES

Las muestras de heces deben examinarse visualmente en busca de bario, aceites, u otros materiales que puedan tornarlas inaceptables para su procesamiento. Las partes con sangre o mucina deben ser específicamente seleccionadas para su estudio microscópico porque pueden provenir directamente de úlceras o de abscesos purulentos, donde la concentración de amebas puede ser máxima.

El examen visual también puede utilizarse para determinar los procedimientos apropiados a realizar, como fuera delineado por Melvin y Smith. Es improbable que las heces formadas contengan trofozoitos; por lo tanto los montajes frescos son innecesarios y solo deben prepararse concentrados, en el sedimento de los cuales es posible observar los huevos de helmintos y las larvas y quistes de los protozoos.

La preparación de frotis coloreados ayuda a identificar los quistes encontrados en los montajes frescos. Debe prepararse montajes frescos, concentrados y coloraciones permanentes para examinar las heces blandas, por que en ellas pueden encontrarse todas las formas parasitarias. Para muestras fecales acuosas o líquidas, la simple centrifugación de la muestra

puede ser suficiente, ya que los trofozoitos no se concentran, y si hay quistes pueden observarse en el sedimento.

Cuando se examinan especímenes fecales fijados con formalina deben realizarse montajes en fresco directos y procedimientos de concentración. Técnicas de concentración individuales son 100% efectivas para recuperar todas las formas. Los quistes de *Giardia lamblia* y los huevos de *Hymenolepis nana* no concentran bien y a menudo son detectados solo en preparaciones de extendidos coloreados. Las muestras formalinizadas no son satisfactorias para la preparación de coloraciones permanentes; no obstante, puede realizarse con especímenes fijados con alcohol polivinílico (PVA) (10).

EXAMEN COPROPARASITOSCOPICO

ASPECTO DE LAS HECES

Color uniforme sobre el aspecto de la materia fecal:

1. Descripción de la consistencia: sólida, semisólida o líquida.
2. Descripción de cualquier contenido visible como sangre, moco o parásitos adultos.

COLOR

Una defecación de color normal es de color café. Las muestras de heces de los niños son por lo general amarillo-café o amarillo-verde.

Una muestra de color pálido o incolora es anormal, puede deberse a la falta de estercobilina, como en la ictericia obstructiva, exceso de grasa ó una mala absorción intestinal, la materia fecal café-negra o negra puede deberse a que el paciente está llevando un tratamiento con hierro o que exista un sangrado gástrico o intestinal alto. El color de las muestras de materia fecal puede reportarse por lo tanto como amarillo, café, café oscuro o negro.

CONCISTENCIA DE LAS HECES

Una muestra normal de materia fecal es sólida. Se observan muestras acuosas o líquidas en la diarrea, causadas por bacterias o parásitos.

Una muestra acuosa como agua de arroz que contenga pequeñas porciones de moco resulta característica del cólera. La consistencia de las heces puede por lo tanto reportarse como: sólidas, semisólidas, acuosas o líquidas.

MÉTODO DE CONCENTRACION POR FLOTACION (FAUST)

INTRODUCCIÓN

En 1938 Faust y colaboradores describieron este procedimiento, un método semejante, pero usando solución saturada de NaCl, fue descrito por Lane en 1924.

Actualmente, por su facilidad de manejo y por hacer una concentración de quistes, huevos y larvas, el método de Faust es uno de los más utilizados con el medio (9).

FUNDAMENTO

Este método se basa en una combinación de los principios de flotación y gravitación. El sulfato de zinc en solución con densidad de 1.180° Baume, además de tener mayor peso las formas parasitarias, no produce deformación de los mismos. Cuando se hace suspensión de heces en esta solución, los quistes, larvas y huevos, flotan sin sufrir alteraciones morfológicas, fenómeno que se acelera mediante centrifugación de la suspensión (9).

MATERIAL Y EQUIPO

1. Sulfato de zinc 1.180°
2. Solución de Lugol parasicológico
3. Agua destilada
4. Tubos de vidrio de 13x100mm
5. Aplicadores de madera
6. Porta y cubre objetos
7. Abatelenguas
8. Centrífuga y microscopio de luz visible

TÉCNICA

1. Homogeneizar de 1 a 2 gr. de materia fecal con 2 ml. de agua destilada.
2. Tamizar a través de una malla de alambre a un tubo de vidrio de 13 x 100 mm.
3. Centrifugar a 2000 rpm. Durante un minuto
4. Decantar el sobrenadante y resuspender el sedimento con agua destilada.
5. Agregar de 2 a 3 ml de sulfato de zinc con densidad de 1.180° Baume y resuspender el sedimento llenar hasta 0.3Hmm antes del borde del tubo con sulfato de zinc y centrifugar a 2000 rpm durante un minuto.
6. Agregar con cuidado, resbalando por las paredes del tubo más sulfato de zinc hasta formar el menisco.
7. Recoger la película del menisco con un cubreobjetos.
8. Colocar una gota de lugol parasicológico en el portaobjetos y depositar sobre el cubreobjetos con la muestra. Observar al microscopio 10x y 40x.

Reportar la presencia de quistes y huevos de los parásitos observados, anotar el nombre completo de los mismos (9).

MÉTODO COPROPARASITISCOPICO DE CONCENTRACIÓN POR FLOTACION POR (WILLIS)

INTRODUCCION

No obstante que varios métodos de flotación simple habían sido descritos, como el de Fulleborn y el de Deboll y O'connor, fue en 1921 cuando Willis, basado en los anteriores, describió el método que lleva su nombre, el cual dada su sencillez, se puede utilizar en trabajos de campo, ya que para realizarlo únicamente se requiere microscopio y laminillas. Actualmente ha caído en desuso siendo inclusive poco conocido en los laboratorios de diagnóstico parasitológico (12).

FUNDAMENTO

Este método se basa en un principio de flotación simple, utilizando una solución de cloruro de sodio de una densidad entre 1.200 y 1.250 en la cual los quistes, huevos y larvas flotan perfectamente (12).

MATERIAL Y EQUIPOS

1. Cloruro de sodio comercial.
2. Solución de lugol parasitológico
3. Agua destilada
4. Una solución saturada de cloruro de sodio o también llamada salmuera.
5. Recipientes cilíndricos de aproximadamente 50ml, de vidrio, polietileno o cualquier otro material.
6. Abatelenguas de madera.
7. Portaobjetos.
8. Cubreobjetos.
9. Microscopio compuesto

PROCEDIMIENTO

1. Se colocan en el recipiente de 2 a 3 gr. de materia fecal, se añade una pequeña cantidad de solución saturada de cloruro de sodio, se homogeneiza y se agrega solución hasta el borde del recipiente.
2. Se coloca un cubreobjetos sobre la boca del recipiente, de tal manera que quede en contacto con la suspensión y se deja reposar durante 15 min.
3. Transcurridos los 15 min. Se toma el cubreobjetos y se coloca sobre un portaobjetos al cual se le ha puesto previamente una gota de lugol parasicológico.
4. Se observa al microscopio con objetivos de 10x y 40x.
5. Reportar la presencia de quistes, huevos o larvas.

RECOMENDACIONES IMPORTANTES

1. Debido a la concentración de la solución, la lectura de las preparaciones se debe hacer de inmediato para evitar la deformación de las estructuras parasitarias.
2. Medidas de seguridad
3. Las correspondientes a un material biológico potencialmente infectante.
4. Indicaciones y limitaciones.
5. Este método hace una buena concentración de quistes, huevos y larvas.
6. Como no se emplea filtración, las preparaciones pueden quedar con estructuras abundantes.
7. Por el material y equipo que se utiliza es un buen método para trabajo de campo (12).

CONCENTRACION POR SEDIMENTACION (RITCHE)

INTRODUCCION

En 1917, Carles y Barthelemy describieron el primer método de concentración por sedimentación utilizando solución salina, éter y formaldehído; años mas tarde, en 1948, Ritche describió un método semejante, el cual hasta la fecha se sigue utilizando. En evaluaciones comparativas con este método, se ha demostrado su utilidad para el diagnóstico de parasitosis intestinales leves o moderadas (9).

FUNDAMENTO

El empleo de éter y formaldehído, permite con el primero, liberar las formas parasitarias de las grasas, por disolución de las mismas, y con el formol se fijan y se conservan. La concentración se hace por centrifugaciones sucesivas.

MATERIAL Y EQUIPO

1. Solución salina isotónica
2. Formaldehído en solución
3. Éter etílico comercial
4. Solución de formaldehído al 10%
5. Tubos cónicos.
6. Gasas cortadas en cuadros
7. Embudos de 5 cm. de diámetro
8. Vaso de precipitado de 50ml
9. Lugol parasicológico
10. Pipeta pasteur

11. Porta y cubreobjetos

12. Centrifuga y microscopio compuesto

TECNICA

1. Con el aplicador de madera se coloca aproximadamente 1 gr. de materia fecal en el vaso de precipitado, se añaden 10 ml de solución salina y se homogeiniza.
2. Se filtra la suspensión a través de la gasa colocada en el embudo, recogiendo el filtrado en el tubo cónico.
3. Se centrifuga la suspensión durante 1 min. a 2,000rp. Se decanta el sobrenadate y se resuspende el sedimento con solución salina, centrifugando, decantando y resuspendiendo las veces que sean necesarias hasta que el sobrenadante sea claro.
4. Al último sedimento se le se le agregan 10ml de solución de formol al 10%, se mezcla y se deja reposar durante 10 min.
5. Se añaden después 5ml de éter, se tapan los tubos con tapones de caucho y se agitan enérgicamente durante 30 segundos.
6. Se centrifugan durante 2 min. a 1,500rpm. Después de centrifugar se observaran 4 capas: éter en la superficie, un tapón de restos fecales, formaldehído y sedimento en el fondo del tubo, conteniendo los elementos parasitarios.
7. Se introduce la pipeta pasteur, a través de las capas hasta el sedimento, se extrae con cuidado una gota del sedimento y se coloca sobre un porta objetos.
8. Se le añade una gota de lugol parasicológico y se observa la preparación en el microscopio, con objetivos de 10x y 40x.
9. Medidas de seguridad

10. Al mezclar y agitar la suspensión de materia fecal con el éter, el tubo debe destaparse lentamente, para evitar que el contenido del mismo se proyecte bruscamente hacia el exterior.
11. El área de trabajo deberá estar libre de mecheros encendidos, pues el éter es inflamable.

INDICACIONES Y LIMITACIONES

12. Es un método que tiene la ventaja de concentrar y de no deformar los quistes, huevos y larvas.
13. Concentra adecuadamente los huevos infértiles de *Ascaris lumbricoides* y de tremátodos.
14. La principal ventaja de esta técnica es su sensibilidad para detectar infecciones leves.
15. Se usa particularmente cuando se necesita una técnica para evaluación de tratamiento y determinación de frecuencia.
16. El uso de formaldehído como fijador, permite el transporte y almacenamiento de la materia fecal procesada antes de ser examinada (12).

COPROPARASITOSCOPICO CUANTITATIVO (STOLL)

INTRODUCCIÓN

La capacidad de los helmintos para producir enfermedades, así como la magnitud de las manifestación clínicas está en relación directa con el número de parásitos presentes en el hombre; por lo tanto, una técnica que establezca el número de huevos por gramo de heces, en una muestra dada, permite calcular el número de parásitos adultos. Dando así una cifra aproximada que permite clasificar a las infecciones en ligeras moderas e intensas (12)

La aplicación de los métodos para el recuento de los huevos de helmintos en materia fecal es extremadamente útil. El resultado terapéutico actualmente es valorado mejor mediante los exámenes de coproparasitoscópicos cuantitativos tradicionales, por otro lado, la técnica de examen fecal que pueden utilizarse para el diagnóstico tanto cualitativo como cuantitativo son el examen en fresco en suero salino y el frotis grueso (12)

Todas las técnicas de concentración son poco útiles para el recuento de huevos; ya que las cantidades obtenidas por cualquiera de estas técnicas son variables y además por otra parte influyen las características diferenciales de cada muestra.

Antiguamente se intentaron determinar la carga relativa de gusanos, estimando la cantidad de huevos, mediante el recuento de estos en las muestras diluidas, que parecían ser teóricamente más precisos. Además se creía que en la muestra fecal los huevos estaban distribuidos al azar, por lo que se consideraban más exactos que los realizados en muestras de gran tamaño, tomada directamente de la muestra fecal. Después se demostró que los recuentos de huevos realizados por frotis directo eran tan fiables como los efectuados por método de dilución (12)

Norman Rudolph Stoll, uno de los fundadores de la parasitología llevó a cabo una investigación sobre parasitología en todo el mundo, relacionada con aspectos epidemiológicos de infecciones por Uncinaria.

En 1923, propuso un método sencillo para contar huevos de Uncinarias en la materia fecal y además demostró que existe una relación aproximada

entre el número de huevos excretados y el número de uncinarias alojadas en el intestino.

Stoll desarrolló este método cuantitativo para el conteo de huevos teniéndose con esto un avance mundial y empezó a conocerse su método en todo el mundo como técnica para el conteo de huevos por dilución de Stoll.

FUNDAMENTO

Este método se basa en los principios de dilución y saponificación. El hidróxido de sodio 0.1 N al ponerse en contacto con las grasas de la materia fecal las saponifica, haciendo que los huevos de los helmintos sean menos pegajosos, desinfecta y deodoriza la muestra. Su fundamento es básicamente aritmético, los cálculos son muy simples, tomando en consideración las diluciones empleadas.

Un aspecto limitante que se debe tomar en consideración es que por el hecho de hacer una dilución de un pequeño volumen de materia fecal en un volumen relativamente grande de una solución de hidróxido de sodio, las posibilidades de evaluar con éxito las helmintiasis moderadas están sumamente disminuidas pues todavía se manejan volúmenes de materia fecal más pequeños que los que utilizan en el examen directo por el hecho de no utilizar tinción temporal, se dificulta observar los quistes de protozoarios (12).

MATERIAL

1. Probeta graduada de 100 ml. Con tapón esmerilado o tubo de ensaye graduado con tapón.
2. Pipetas graduadas de 2ml. En 0.01ml.
3. Portaobjetos.
4. Cubreobjetos.
5. Varillas de vidrio de 20 cm.
6. Perlas de vidrio.

REACTIVOS

1. Hidróxido de sodio 0.1N
2. Agua destilada

TECNICA

1. Verter 56 ml de NaOH 0.1N en una probeta de 100ml. Añadir materia fecal a un volumen de 60ml. Agregar de 15 a 20 perlas de vidrio de 5.0mm de diámetro.
2. Tapar la probeta y agitar durante un minuto.
3. Introducir una pipeta graduada de 1 ml, a la parte media de la suspensión.
4. Tomar 0.15 ml de la suspensión y colocarlo sobre un portaobjetos y cubrir con un cubreobjetos.
5. Reportar la presencia de quistes de protozoarios. Cuantificar el total de huevos de helminto, multiplicar por 100(heces formadas), 200(heces blandas) y 400(heces líquidas). Reportar número de huevos por mililitro de heces (hmlh).

6. CALCULOS

Para obtener el número de huevos evacuados por día considerando que una deposición por día en promedio es equivalente a 100gr. Es posible calcular el número de huevos por día, tan solo **multiplicando el resultado de la suspensión original por 10,000.**

Para determinar el número de gusanos hembras presentes, se hace dividiendo el **número de huevos presentes en las heces por día / número promedió de huevos producidos por gusano hembra.**

Para encontrar el número total de gusanos adultos, se calcula **multiplicando la respuesta del número de hembras X 2**, esto es por que se

considera que el grado de infección provee a un gusano macho por cada gusano hembra (12).

COPROPARASITOSCOPICO CUALITATIVO (KATO – MIURA)

INTRODUCCION

En 1954 Kato y Miura introdujeron la técnica de estudio del frotis grueso con buen resultado para contar huevos de helminto. Martin y Beaver en 1968 desarrollaron modificaciones a esta técnica con lo que les permitió: retirar fibras de la materia fecal, hacer extensión uniforme del frotis y evitar aclaraciones excesivas de la preparación. Para el diagnóstico de las infecciones por *Schistosoma mansoni* y *Schistosoma haematobium* la técnica que suele preferirse es la del frotis grueso de Kato. Aunque no es esencial para hacer estimaciones fiables de la producción de huevos. Kato y colaboradores recomiendan una modificación que consiste en el empleo de un patrón calibrador, fabricado de cartón o plástico desechables, de un grosor tal que contenga aproximadamente 50 mg de heces fecales, en un orificio circular perforado de 6 mm. Tras presionar la muestra fecal en el orificio, sujetando este en el centro del portaobjetos, se retira y se desecha el patrón se extiende la muestra sobre una lámina de celofán y se efectúa el recuento de huevos con la técnica habitual.

Peters y colaboradores, introdujeron y probaron otra modificación denominada Frotis rápido de Kato, para esto utilizaron patrones de acero inoxidable contruidos para situar en el portaobjetos una muestra de 20 mg. Gracias al uso de la muestra más pequeña pudieron hacer preparaciones por duplicado y examinarlos de inmediato.

Una dificultad que plantea el empleo de patrones es que pueden quedar atrapadas burbujas de aire en la muestra media y que una gran parte de esta pueda adherirse al patrón (12).

FUNDAMENTO.

El fundamento de esta técnica se basa en la acción que tiene la glicerina como aclarador de los huevos de helmintos y el verde de malaquita como colorante de contraste.

MATERIAL Y REACTIVOS.

1. Solución de glicerina verde de malaquita, en esta solución se humedecen los cubreobjetos de celofán y se dejan permanecer por un mínimo de 24 horas.
2. Cubreobjeto de papel celofán humedecidos en solución glicerina verde de malaquita de grosor medio cortados en rectángulos de 22 x 30 mm.
3. Malla de acero inoxidable de trama 105 cortada en cuadros de 4 cm. y de lado. También puede utilizarse una malla de fibra sintética gruesa y de trama similar. Portaobjetos y aplacadores de madera.

EQUIPO.

1. Microscopio compuesto.
2. Balanza analítica.

TÉCNICA.

1. Con un aplicador de madera se transfieren aproximadamente 50 mg de heces a un portaobjetos. Cuando se trata de muestras fibrosas, se ponen unos 2 mg de heces en una hoja de papel desechable, se sitúa sobre un cuadro de malla y se retira una muestra de las heces colocadas, con un aplicador, presionando la malla sobre la muestra y raspando su superficie con el aplicador. Cuando las heces son compactas y duras hay que añadir algunas gotas de agua hasta conseguir una consistencia pastosa.
2. Se cubre la muestra fecal con un portaobjetos de celofán humedecido previamente en la solución de glicerina verde de malaquita, se pone la preparación boca abajo en una superficie absorbente como por ejemplo un papel grueso y blando sobre una mesa y se presiona hasta que la

película fecal cubra un área de 20 a 25 mm de diámetro. Cuando la cantidad de heces situadas sobre el portaobjetos está en exceso suele fluir por debajo del cubreobjetos, por lo que se desecha con el papel absorbente.

3. Se deja en reposo la preparación durante alrededor de 1 hora a temperatura ambiente durante 20 a 30 minutos, en una incubadora seca a 37 °C o bajo una lámpara eléctrica. De esta forma, las heces se aclaran pero los huevos de helminto no. Como en esta técnica los huevos de uncinarias y algunas otras especies que tienen la pared muy delicada se colapsan y desaparecen, la preparación debe examinarse inmediatamente, para que el aclaramiento no sea excesivo; además el procedimiento de secado puede interrumpirse temporalmente poniendo la preparación boca abajo sobre una superficie plana.
4. Se examina toda la preparación abajo aumento. Con experiencia los microscopistas pueden descubrir e identificar los huevos de todas las especies de helmintos comunes, a aumentos muy pequeños 12).

CÁLCULOS.

El total de los huevos por especie de helmintos observados en la preparación deberá multiplicar por un factor constante de 20 y el producto será la cifra a reportar. El resultado se expresa en huevos o larvas por gramo de heces (12).

METODO CUANTITATIVO (KATO – KATZ)

PROCEDIMIENTO

1. Tomar con un aplicador 500mg. de materia fecal y colocarlos sobre un papel absorbente.
2. Tamizar con una malla de alambre o malla de nylon.
3. Colocar un cartón de 30x40x1.40mm. con un orificio central de 7 mm de diámetro.
4. Depositar con un aplicador 50mg de la materia fecal tamizada. Dentro del orificio.
5. Retirar el cartón y colocar el cubreobjetos de celofán impregnado de verde de malaquita y glicerina.
6. Comprimir la muestra con un tapón y dejar reposar 30min. para aclaramiento, leer a 10x.
7. Reportar la presencia de quistes de protozoarios. Cuantificar el total de huevos de helminto y multiplicar el resultado por 18.5 (malla de nylon) y 24 (malla de alambre). Y reportar el número de huevos por gramo de heces (12).

TÉCNICA DE FERREIRA 1:10

INTRODUCCIÓN

La aplicación de los métodos para el recuento de huevos de helmintos en materia fecal es extremadamente útil. El resultado terapéutico actualmente es valorado mejor mediante los exámenes C. P. S. cuantitativos tradicionales, por otro lado las técnicas de examen fecal que pueden utilizarse para el diagnóstico tanto cualitativo como cuantitativo son el examen en fresco en suero salino y el frotis grueso.

A continuación se da una tabla resumida con las características principales para diferenciar e identificar los huevos de helmintos.

a) Huevo no operculado, esférico de color antepálido o café nogal, mide de 25 - 43 μ de diámetro, morfológicamente indeferenciable, con tres capas: la externa mucoide y granulosa, la media gruesa y radiada y la interna propia de la oncósfera **GÉNERO *Taenia* spp.**

b) Huevo ancho ovoide, operculado, de color amarillo, mide de 6 - 44 μ . de diámetro, con cápsula moderadamente gruesa y necesita de un medio acuoso con una temperatura de 15 a 20 °C para desarrollarse alcabo de 11 – 15 días ***Diphyllobotrium latum.***

c) Huevo semiesférico u ovalado, hialino, mide de 30 – 40 μ de diámetro, posee una oncósfera que está encerrada en una envoltura interna con dos engrosamientos polares de los cuales salen de 4 – 8 filamentos polares y además con tres pares de ganchos en forma de lanceta ***Hymenolepis nana.***

d) Huevo casi esférico y mide 60 – 79 μ . por 72 – 86 μ . y posee una membrana externa transparente y en cuya periferia hay gran número de granulaciones, ligeramente amarillenta y otra interna alrededor de la oncosfera, la cual presenta dos engrosamientos polares sin filamentos polares. Entre las dos membranas hay una matriz gelatinosa incolora. Los seis ganchos de la oncosfera están dispuestos en forma de abanico ***Hymenolepis diminuta.***

e) Huevo grande, ovoidal, en el extremo más puntiagudo presenta un opérculo de color pardo amarillento claro mide de 130 – 150 μ de diámetro y no están maduros en el momento de la puesta ***Fasciola hepatica***.

f) Huevo ancho, ovoide con cápsula gruesa y transparente, formada por tres capas, la interna o membrana vitelina es lipóide, la media derivada de glucógeno y la externa albuminoidea con mamelones múltiples esta es la capa que toma color café dorado. Dentro las tres capas se encuentra una célula huevo perfectamente visible ***Ascaris lumbricoides***.

g) Huevo en forma de barril o de pelota de fútbol americano, mide 50 – 54 μ de diámetro, hacia fuera tiene la membrana vitelina y una cubierta de tres capas, en los dos extremos se encuentran dos prominencias intralaminares que son tapones mucoides ***Trichuris trichiura***.

h) Huevo elipsoidal, mide de 50 – 60 μ de largo por 20 – 32 μ de ancho, posee un lado plano y el otro convexo con un extremo más ancho que el otro, posee una capa externa albuminosa, transparente y gruesa y dos internas, una de quitina y la otra lipóide, no se encuentran larvados en el momento de la oviposición ***Enterobius vermicularis***.

i) Huevo ovoidal, de 60 μ de diámetro morfológicamente indiferenciado, con el extremo redondeado, su cubierta es hialina y delgada. Cuando son eliminados con la materia fecal habitualmente están segmentados en 2 – 8 blastómeros **UNCINARIAS**.

j) Huevo hialino, oval, de cápsula delgada, segmentado y mide de 52 – 58 μ de largo por 30 – 38 μ de ancho ***Strongyloides stercoralis*** (8).

TECNICA

1. Homogeneizar 5 gr. de materia fecal con 45 ml de solución de formaldehído al 5%.
2. Tamizar la muestra a través de una malla de alambre a un tubo de polietileno.
3. Centrifugar a 2000 rpm durante 1 minuto.
4. Decantar el sobrenadante y resuspender el sedimento con 45 ml de agua destilada. Centrifugar, repetir el procedimiento de dos a tres veces hasta observar un sobrenadante claro.
5. Agregar 10 ml de sulfato de zinc con densidad 1.190 ° baume y resuspender el sedimento. Introducir la campana de Ferreira y llenar el tubo con sulfato hasta el borde de la rondana, centrifugar a 2000 r.p.m durante 1 minuto.
6. Compartir la banda elástica de la campana y sin dejar de presionar retirarla del tubo.
7. Limpiar con una gasa la parte exterior de la campana.
8. Invertir la campana y agregar una gota de lugol parasitológico.
9. Mezclar perfectamente el contenido de la campana.
10. Depositar la gota sobre el portaobjetos y homogeneizar.
11. Observar al microscopio y reportar la presencia de quistes de protozoarios, cuantificar el total de huevos de helmintos, multiplicar por 5 y reportar el número de huevos por gramo de heces, reportar el nombre completo de los parásitos (11).

TABLAS DE RELACIÓN DEL NÚMERO DE HUEVOS, CON EL NÚMERO DE GUSANOS Y EL CUADRO CLÍNICO DEL HOMBRE:

<i>N. americanus</i>	<i>A. duodenale</i>	No. de gusanos	Intensidad de infección	Formas clínicas
1 100	2 200	50	Leve	Asintomáticos
2 200	4 400	100	Moderada	Oligosintomática
11 000	22 000	500	Intensa	Anemia manifiesta
22 000	44 000	1 000	Muy intensa	Hipersintomática
66 000	1232 000	3 000	Intensísima	Grave, mortal, anemia

CLASIFICACIÓN DE TRICOCEFALOS DE ACUERDO AL NÚMERO DE HUEVOS POR GRAMO DE HECES (H. G. H) Y EL CUADRO CLÍNICO.

Huevo/gramo/heces	1-999	1 000-4995	5 000-99 999	100 000 ó más
Diarrea	30.9%	45%	64%	100%
Dolor abdominal	52.2%	63%	59%	66%
Disentería	7.1%	13%	39%	66%
Palidez	24%	23%	46%	66%
Prolapso rectal	1.0%	3%	19%	53%

OTRAS CLASIFICACIONES.

Huevos/gramo/heces	Infección ligera	Infección intensa
Ascariasis	20 000	25 000
	5 000	50 000

TECNICA DE GRAHAM

FUNDAMENTO

La hembra de *Enterobius vermicularis* al llegar a la gravidez, durante la noche y mientras el hospedero duerme emigra hasta el orificio anal y se fija por sus labios corneados a los pliegues radiales anales y peri anales lo que causa el prurito vespertino característico para vaciar su útero, después de esta puesta masiva muere y es eliminada al exterior. Por lo que es excepcional encontrar los huevos en las heces, siendo esta la razón por la cual es necesario recurrir a una técnica que permita obtener directamente de los pliegues anales a los huevos de oxiuros. Es por esto también que debe de tomarse la muestra por la mañana (13).

MATERIAL

1. Cinta de celulosa transparente adhesiva de 12mm de ancho
2. Abatelenguas
3. Portaobjetos

PROCEDIMIENTO

1. Separar la cinta adhesiva del portaobjetos y doblar sobre un extremo del abatelenguas.
2. Sujetar firmemente el portaobjetos contra el abatelenguas.
3. Presionar el extremo del abatelenguas cubierto con la cinta adhesiva sobre los pliegues anales.
4. Colocar la cinta adhesiva sobre el portaobjetos, con el lado adhesivo hacia abajo.
5. Adherir uniformemente la cinta al portaobjetos con el otro exterior del abate lenguas.
6. Observar al microscopio 10x y 40x.
7. Reportar el nombre completo de los parásitos (12).

TECNICA DE BAERMAN PARA LA IDENTIFICACION DE LARVAS

RHABDITIS

INTRODUCCION

Los huevos de uncinariformes observados en muestras fecales pueden ser difíciles o imposibles de diagnosticar, mientras que las larvas que surgen de ellos se identifican fácilmente. Un problema práctico frecuente es la diferenciación de las infecciones por Uncinariosis y Strongyloidosis.

Para recuperar larvas a partir de huevos, Harada y Mori en 1955 describieron un método sencillo y limpio en tubo de ensaye que sufrió después modificaciones diversas (Sosa y Cols., 1958. Hsieh, 1963) y que solo exige tener materiales muy accesibles. Para recuperar grandes cantidades de larvas se prefieren las técnicas con carbón. Las larvas de uncinaria no pueden recuperarse a partir de muestras refrigeradas (11).

Todas las técnicas de recuperación en helmintología tienen esencialmente un objetivo el diagnóstico de Strongiloidosis y el diagnóstico diferencial de esta helmintiasis con la anquilostomiasis, por la contaminación accidental de las heces por nemátodos libres (en particular los de Rhabditis y Trichostrongylus). Para el diagnóstico de la estrongiloidosis, se debe recurrir a la recuperación de larvas, cuando todos los otros métodos que hemos descrito son difíciles para poner en evidencia al parásito. Se sabe que en materia de estrongiloidosis, el síndrome doloroso duodenal puede no ser proporcional a la intensidad de la infección, que existe periodos en el curso de los cuales las larvas son raras en las heces, mientras que el número de adultos albergados no ha variado, que se trata de una parasitosis rebelde a la terapéutica y que por lo tanto, se debe de controlar los efectos de esta (3).

MATERIAL

1. Varilla de soporte y arcos de hierro
2. Embudo de separación
3. Vaso de precipitado de 100ml

4. Malla de alambre
5. Gasas
6. Agua destilada a 40°C
7. pinza de more

PROCEDIMIENTO

1. Colocar un dispositivo de BAERMAN
2. Colocar una malla de alambre con una gasa sobre el embudo y llenar con agua destilada a 40°C hasta tocar el borde.
3. Poner la muestra de heces sobre la gasa y dejar reposar durante 2hrs.
4. Abrir la pinza de more y recolectar el sedimento en un vaso de precipitado
5. Centrifugar el sedimento durante un minuto a 1,500 r.p.m.
6. Tomar una gota del sedimento centrifugado
7. Poner sobre un portaobjetos con una gota de lugol parasicológico
8. Cubrir con un cubreobjetos y observar al microscopio (4).

METODO ESPECIAL DE HARADA - MORI

MATERIAL

1. Tubos de ensaye de 25x75mm
2. Tiras de papel filtro
3. Abatelenguas o aplacadores de madera
4. Papel celofán de 6x6cm

5. Ligas
6. Gradilla
7. Portaobjetos
8. Cubreobjetos
9. Pipetas pasteur de 25cm con bulbo de goma
10. Agua destilada
11. Lugol parasicológico

PROCEDIMIENTO

1. Tomar muestra con un aplicador de madera
2. Extender la materia fecal sobre una tira de papel filtro de 1.3x12.5 cm. Dejar libre de 2 a 3 cm. En cada extremo.
3. Colocar en un tubo de vidrio de 15x150mm con 5ml de agua destilada e introducir el papel filtro. Tapar, incubar a 26°C por 10 días
4. Revisar a partir del quinto día el sedimento
5. Colocar una gota de sedimento entre un portaobjetos y un cubreobjetos
6. Observar cada 43 horas en cinco ocasiones, un total de 15 días.
7. Después de 15 días reportar el género y la especie de las larvas filiformes, reportar sin identificación cuando no hay desarrollo (2).

CUCHARILLA RECTAL

INTRODUCCION

El riesgo de desarrollar una disentería u otra forma de amibiasis para cualquier individuo que no haya viajado a una zona endémica y que viva en las condiciones higiénicas habituales es muy bajo.

El diagnóstico de disentería amibiana se suele sospechar ante la aparición de una diarrea con sangre durante un viaje a países tropicales o en los dos primeros meses tras el regreso el mismo. Sin embargo será necesario confirmar esta sospecha puesto que muchas infecciones intestinales por bacterias y algunas enfermedades inflamatorias del intestino pueden dar lugar a cuadros de diarrea con sangre.

El médico solicitará inicialmente uno o más estudios de las heces con cultivos para descartar que el problema tenga un origen bacteriano y exámenes microscópicos en fresco para demostrar la presencia de amibas. También podría indicarse, inicialmente o si el examen de heces es negativo, la realización de análisis de sangre para detectar la aparición de defensas frente a *Entamoeba* (4).

Los casos de disentería grave que ocasionan afectación general importante, fiebre elevada o mucho dolor abdominal, los que presentan complicaciones y cuando se sospecha afectación de otros órganos deben ser remitidos al hospital.

1.- Estado de salud del paciente:

El conocimiento del estado de salud del paciente, es uno de los datos más importantes que debemos tomar en cuenta, esto es, si en el momento de recolección de la muestra el paciente sufre un cuadro agudo, el cual casi siempre se relaciona con diarrea, la muestra deberá recogerse inmediatamente. Si el paciente se encuentra en un estado crítico de la enfermedad, el cual se caracteriza por su constipación o por la presencia de heces pastosas o duras, entonces el paciente podrá recoger la muestra en su casa (4).

2.- Toma de muestra:

En niños se recomienda utilizar cucharilla rectal. La toma se hará colectando una porción pequeña, aproximadamente 5 gr.

En el caso de adultos la muestra será recolectada por el paciente en un frasco de boca ancha, limpio, seco, (no estéril) y de cristal transparente, ahí es

donde se hará el estudio microscópico de la muestra, para conocer su consistencia y establecer la presencia o ausencia de proglotidos, parásitos enteros, sangre, moco u otros elementos anormales.

La muestra fecal escogida del suelo es inadecuada porque puede ir contaminada de larvas de vida libre. Tampoco se deben utilizar las muestras del excusado pues se podría contaminar con organismos coprozoicos. Así mismo la muestra no se debe mezclar con orina, pues esta, igual que el agua, destruye los trofozoítos. El tamaño de la muestra fecal debe ser aproximadamente del tamaño de una nuez (cuando las heces son bien formadas), si son diarreicas, la cantidad debe ser equivalente.

Procurar que la muestra llegue fresca al laboratorio, el frasco al llegar al laboratorio deberá marcarse con el nombre del paciente, edad, sexo, fecha y hora de la toma de muestra.

Si las muestras no pueden examinarse en cuanto lleguen, colóquese en el refrigerador (4-5°C) o en las zonas más frescas de laboratorio donde no les de el sol.

Examínese en cuanto llegue al laboratorio los excrementos diarreicos y los que contengan sangre y mucosidades.

De instrucciones correctas al paciente para que la muestra no sea contaminada con la orina o papel y la cantidad sea el tamaño de una nuez (4).

3.- Conservación de muestras:

Cuando se manejan heces formadas se pueden dejar a temperatura ambiente sin exposición al sol durante 12 horas, sin que se pierdan las características diagnósticas de los parásitos, sin embargo, es preferible conservarlas en refrigeración hasta su entrega al laboratorio. En cambio, cuando se trate de heces líquidas o semilíquidas deberán examinarse en un plazo no mayor de una hora y nunca deberán refrigerarse.

4.- Eliminación de muestras:

Si la recogida de los excrementos se ha hecho en cajas de papel, la mejor manera de deshacerse de ellos es incinerando el recipiente completo, o si el excremento se recogió en un recipiente de metal o de vidrio viértase

formalina al 10% en el recipiente hasta cubrir el excremento, a fin de destruir todos los parásitos que pueda hacer.

Déjese reposar durante una hora o más antes de eliminarlo o lavarlo (si el recipiente es de vidrio).

Los portaobjetos utilizados para las preparaciones húmedas deben colocarse en una cubeta llena de desinfectante (por ejemplo hipoclorito de sodio) durante una hora al menos antes de lavarlos, los embudos tapas y tubos de centrifugadora también deben de introducirse en desinfectante durante una hora antes de ser lavado.

Los palillos aplacadores y las gasas han de ser incineradas, si no es posible, pueden desecharse después de impregnarlos de desinfectante (4).

TECNICA

1. Introducir vía rectal la cucharilla y realizar un raspado de la mucosa repetir el procedimiento de dos a tres veces.
2. Depositar la muestra en el frasco con 1.5 ml de solución salina.
3. Tomar una gota con una pipeta pasteur.
4. Colocar la gota en un portaobjetos.
5. Colocar otra gota y teñir con lugol parasicológico.
6. Observar la preparación al microscopio 10x y 40x (7).

MEDIO DE CULTIVO DE BOECK - DRBOHLAV

INTRODUCCION

La amibiasis actualmente se define como infección por *Entamoeba histolytica*, un protozooario parásito. Normalmente residente en el intestino grueso, las amibas ocasionalmente penetran la mucosa intestinal para diseminarse a otros órganos. Se desconoce los factores que desencadenan su invasión. La *E. histolytica* es responsable de hasta 100.00 defunciones anualmente, colocando la amibiasis en segundo después de la malaria, en la mortalidad, debida a protozoarios parásitos. Es muy conocido que muchas

personas que aparentemente se infectaron por *E. histolytica* nunca desarrollaron síntomas y que la infección cedió espontáneamente. Esto fue interpretado por muchos trabajadores de la salud como indicador de la variable virulencia del parásito. Sin embargo, en 1925 Emile Brumpt sugirió una explicación alternativa. Esta era que, en efecto, había dos especies: una especie capaz de causar enfermedades invasoras y que no causaba enfermedad. A esta última la llamo *E. dispar*. La hipótesis de Brumpt fue descartada por otros expertos.

La conformidad de estas dos especies diferenciadas de *Entamoeba* es quizás el más reciente e importante logro en el campo de la investigación en amibiasis. Además han sido identificadas proteínas asociadas con su virulencia, incluida una lecitina que media la adherencia a células epiteliales, un péptido que forma poros y que destruye las células del huésped, y la secreción de proteasa que degrada los tejidos del huésped. La virulencia de estas proteínas, así como otros antígenos únicos presentes en la superficie de los parásitos.

Datos bioquímicos inmunológicos y genéticos indican en la actualidad que hay dos especies con las características morfológicas descritas como *E. histolytica* y *E. dispar* respectivamente, solo *E. histolytica* capaz de causar enfermedad invasora.

La identificación de especies, basadas en el cultivo, no puede nunca excluir la presencia de *E. histolytica*.

El medio de cultivo de Boeck – Drbohlav es utilizado para el desenquistamiento de *Entamoeba histolytica* (7).

TECNICA

PREPARACION DEL MEDIO DE HUEVO

1. Lavar los huevos con detergente y enjuagar con agua destilada.
2. Desinfectar los huevos con tintura de yodo.

3. Romper los huevos y vaciar el contenido en el matraz con perlas de vidrio, tapar el matraz.
4. Homogeneizar vigorosamente.
5. Tamizar a través de la gasa y el embudo a un matraz limpio.
6. Verter 5 ml aproximadamente de suspensión a cada tubo de 15 x 150 mm.
7. Coagular a 80 °C durante 20 min.
8. Conservar los tubos en refrigeración hasta su uso

SIEMBRA DE LA MUESTRA EN MEDIO DE CULTIVO

1. Colocar a 37°C tres tubos con medio de Huevo y uno a dos tubos con solución salina / muestra, por 10 a 15 min.
2. Retirar los tubos de la estufa, tomar una porción de la muestra (50mg) con asa bacteriológica y llevar al fondo del tubo.
3. Añadir 10 ml de solución salina y 20 mg de harina de arroz / tubo de medio de huevo.
4. Incubar va 37 °C.

LECTURA E INTERPRETACION

1. A las 24 hrs., sacar de la estufa los tubos de cultivo sembrados.
2. Agitar levemente el sedimento.
3. Tomar con pipeta pasteur una gota del sedimento y colocarla entre porta y cubreobjetos.
4. Observar al microscopio con seco débil y seco fuerte.
5. Cultivo positivo: al observar trofozoítos de *E. histolytica* o de *B. hominis*.
6. Cultivo negativo: al no observar trofozoítos después de tres lecturas (4).

CONCENTRACION – ACLARAMIENTO – TINCION (CONATIN)

INTRODUCCION

El *Cryptosporidium* es un parásito que desde su descripción a principios del presente siglo sólo en los últimos años, y dentro del contexto de la epidemia del SIDA, se ha reconocido su importancia como causa de enfermedad en humanos; hasta 1995 fue considerado un comensal y en 1976 se comunicó la criptosporidiasis humana como causa grave de enteritis.

Aunque el número de especies y cepas de este protozoo no se conoce con exactitud se consideran, basándose en el tamaño de los ooquistes, dos especies que afectan a los mamíferos: *C. parvum* y *C. muris*; el primero se cree que es el que causa enfermedad diarreica en los humanos. Como característica tintorial sus ooquistes tienen propiedades de ácido-alcohol resistencia.

El *Cryptosporidium* se desarrolla por completo en el interior de un solo huésped. La infección se inicia por ingestión, tal vez también por inhalación, de ooquistes que completan su ciclo vital en el interior del organismo que han infectado.

El *Cryptosporidium* puede transmitirse de humanos a humanos, de humanos a animales y de animales a humanos. Además de la contaminación fecal del medio ambiente puede producirse la diseminación a través del agua, de los alimentos e incluso del aire, a través de las manos o de los objetos contaminados.

La diseminación interpersonal es más fácil entre los niños asistentes a guarderías, entre los contactos intrafamiliares del caso índice y entre pacientes hospitalizados y el personal sanitario.

Su prevalencia es variable según la zona geográfica considerada. Estudios en EEUU han demostrado su presencia hasta en el 1% de los adultos con diarrea y, mediante pruebas serológicas, entre el 15-30% de la población. Aunque su incidencia se desconoce en pacientes con SIDA se estima que entre el 5-10% de ellos presentan criptosporidiasis cada año.

El agua se ha implicado en brotes de criptosporidiasis en los viajeros. La cloración del agua, que habitualmente elimina bacterias y virus, no destruye los quistes de *Cryptosporidium* que también son resistentes a otros desinfectantes; el calor superior a los 65 grados o el tratamiento prolongado con lejía (más de 18 horas) pueden ser efectivos para destruir la viabilidad de los ooquistes. A pesar del pequeño tamaño de los quistes (4-6 micras) la filtración del agua, con el tamaño de poro conveniente, puede ser efectiva para eliminarlos. La potabilidad del agua no garantiza que esté completamente libre de quistes de *Cryptosporidium* (13).

La vía oro-fecal, por contacto con heces de animales o humanos, la ingesta de agua potable contaminada y la transmisión sexual (contacto orogenital) parecen ser los mecanismos fundamentales de transmisión de esta parasitosis en humanos (13).

TECNICA DE CONATIN

1. Realizar la técnica de RITCHE.
2. Decantar cuidadosamente el sobrenadante.
3. Al sedimento agregar NaOH 0.2 N.
4. Incubar a 37°C durante 30 min.
5. Lavar dos veces con solución salina y centrifugar a 2000 r.p.m.
6. Retirar la solución salina.
7. Continuar con la tinción de KINYOUN.

KINYOUN

1. Frotis.
2. Fijar al calor.
3. Fijar con metanol.
4. Cubrir con fucsina durante 2 min.
5. Enjuagar.
6. Desteñir con ácido sulfúrico al 10%
7. Contrastar con verde de brillante 1% 10 segundos.
8. Enjuagar con agua destilada.
9. Observar al microscopio 100x.
10. Búsqueda de Ooquistes de *Cryptosporidium parvum*. (1).

TECNICA DE FLOTACION DE SHEATHER PARA LA RECUPERACION DE OOQUISTES DE CRYPTOSPORIDIUM EN MUESTRAS FECALES

Se prepara una suspensión densa de heces en solución salina fisiológica y se filtra a través de una gasa, en un tubo de centrifuga, hasta la mitad. Agregar igual volumen de la solución de azúcar de Sheather (500g de sacarosa, 320 ml de agua destilada y 6.5 g de fenol fundido), llevando la superficie del líquido del líquido algo por encima del tope del tubo. Mezclar suavemente con un aplicador. Colocar un cubreobjetos de 18 mm x 22 mm sobre la superficie de la suspensión y dejar reposar durante 45 min. Retirar con suavidad el cubreobjetos y montarlo en un portaobjetos de vidrio. Observar con microscopio de contraste de fase en busca de ooquistes esféricos, de 5 µm. a 6 µm. de diámetro, altamente refringentes.

También puede usarse una coloración ácido-alcohol modificada para detectar ooquistes de *Cryptosporidium* en frotis fijados con metanol y secados al aire, preparados directamente de una muestra de heces. La tinción de carbolfucsina se aplica del mismo modo que la tinción ácido-alcohol resistente de rutina, pero se usa ácido sulfúrico al 1% como descolorante en lugar del alcohol ácido (10).

MUESTRAS EXTRAINTESTINALES

ESPUTO

En raras ocasiones pueden observarse estados larvales de *anquilostoma*, *A. lumbricoides* o *Stercoralis*, o los huevos de *P. westermanii*, en muestras de esputo. En general, es suficiente el preparado de un montaje salino directo. Si el esputo es inusualmente espeso o mucoso, puede agregarse igual cantidad de N-acetil-liciteína para licuar la muestra mezclando por 2 o 3 minutos y centrifugar. Después de la centrifugación, se prepara un montaje fresco para su examen microscópico.

ORINA O LIQUIDOS CORPORALES

Según el volumen de líquido obtenido, puede ser necesario dejar la muestra en reposo por 1 o 2 horas. Entonces se centrifugan alrededor de 50 ml del sedimento, que resultan en una muestra altamente concentrada que se examina en montajes frescos. Si se observan formas sugestivas de parásitos, el examen de preparado yodados pueden ayudar a realizar las estructuras internas diagnósticas (10).

BIOPSIA HÍSTICA

Es importante que el tejido de la biopsia se enviado al laboratorio sin agregado de formalina. Si no fuera posible evitar una demora en su procesamiento, deberá fijarse con alcohol polivinílico (PVA). Si la muestra es blanda, puede raspase una pequeña porción y colocarse en una gota de solución salina para un examen en fresco. También deben prepararse impresiones presionando una superficie recién cortada del tejido contra un portaobjetos de vidrio, que se colocará de inmediato en un fijador, como solución de Schaudinn. También puede aplicarse la coloración tricrómica y otras. La porción restante del material de biopsia debe enviarse para su examen histológico.

MÚSCULO

Las formas larvadas espiraladas características de *Trichinella spiralis* se observan mejor en un montaje hecho con biopsia de músculo esquelético. García y Ash sugieren tratar el material de biopsia con un líquido ingestor antes de su examen. Este líquido se prepara agregando 5 gr. de pepsina a una mezcla de 1000 ml de agua destilada y 7 ml de ácido clorhídrico concentrado. Se coloca el tejido en un frasco de Erlenmeyer de boca ancha y se agrega el líquido digestor en proporción de una parte del tejido en 20 partes del líquido, colocándose a 37 °C durante 12 a 24 horas después de la digestión, se examinan unas pocas gotas del eluato bajo el microscopio en busca de larvas. Si no se observan se centrifugan 15 ml de la mezcla y se examina el sedimento (10).

SANGRE

Se coloca una gota de sangre coagulada sobre un portaobjetos, se cubre con un portaobjetos y se examina microscópicamente en busca de formas extraeritrocíticas grandes y, con frecuencia móviles como tripanosomas y microfilarias. La morfología de los plasmodios intraeritrocíticos (paludismo, babesia, teileria) se observa mejor con un frotis de sangre periférica teñidos con las coloraciones de Wright o de Giemsa. Deben prepararse frotis delgados y gruesos.

Los primeros se usan principalmente para la identificación de especie específica de plasmodios y otros parásitos intraeritrocíticos, se preparan de igual manera que los frotis para fórmula sanguínea. El extremo penífero delgado debe tener por lo menos 2 cm. de largo, sin superposición de los eritrocitos, y debe de estar ubicado centralmente, con márgenes libres en ambos lados. Deben tomarse precauciones al preparar la película delgada, de modo que el borde penífero sea extendido uniformemente y esté libre de agujeros, rayas y otros artificios.

Los frotis gruesos, que permiten el examen de gran cantidad de sangre, son especialmente útiles para detectar parásitos en infecciones leves. Se obtiene la sangre mediante punción de la yema de un dedo dejándola fluir libremente; debe evitarse ordeñar el dedo. Colocar 2 o 3 gotas de sangre en un portaobjeto higienizado con alcohol. Mediante un movimiento circular con el coágulo de otro portaobjetos o con un aplicador, extenderlas para cubrir una superficie de aproximadamente 1 cm^2 . Continuar mezclando las gotas durante 30 segundos, para evitar la formación de coágulos de fibrina, esto no es necesario si se utiliza sangre anticoagulada. Dejar secar al aire, en un ambiente libre de polvo. Una vez que la película está seca, debe colocarse el portaobjetos en agua o en una solución de buffer inmediatamente antes de la tinción (10).

Ambos frotis delgado y grueso deben teñirse tan pronto como sea posible después de su preparación (siempre dentro de las 48 horas) con

coloración de Giemsa o de Wright. Los extendidos gruesos pueden requerir un tiempo de exposición al colorante mayor que los delgados (10).

MÉTODO DE CONCENTRACIÓN PARA MICROFILARIAS

EXAMEN DE LA SANGRE

La sangre se examina en busca de microfilarias móviles haciendo una preservación en fresco, montando una gota de sangre sobre un portaobjetos y recubriéndola con un cubreobjetos. De ser posible, se le deberá examinar utilizando iluminación en campo oscuro y con un objetivo de 40x que permita ver la vaina con claridad. Usando luz ordinaria transmitida se examina la preparación con el objetivo de 10x y abertura reducida del condensador.

1. Cuando una preparación directa resulta negativa, puede usarse un método de concentración en la siguiente forma.
2. Depositar aproximadamente 5 ml de sangre con anticoagulante de citrato de sodio.

3. Vaciar La sangre en un tubo de centrifuga y llenarlo con solución de formalina al 2%.
4. Mezclar bien la sangre con solución de formalina y dejarla reposar durante unos 5 minutos. La solución de formalina provocará la hemólisis de los eritrocitos y la fijación de las microfilarias.
5. Centrifugar el tubo a gran velocidad durante unos 5 minutos y observar al microscopio en busca de microfilarias.

PRESERVACIÓN DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

Muchas muestras clínicas para el examen de huevos y parásitos son recolectadas en el hogar, en el consultorio médico o en una clínica algo distante del laboratorio que realiza el examen. Lo óptimo es que las muestras sean examinadas dentro de la hora de la recolección para detectar los trofozoítos móviles. Si esto no es posible, deben refrigerarse o mantenerse a temperatura ambiente. Nunca deben congelarse y descongelarse ni colocarse en una incubadora, porque las formas parasitarias se deterioran con rapidez.

Se disponen de varios preservadores para la fijación permanente de las muestras de materias fecales que deben ser enviadas a laboratorios de consultas para su análisis. Un fijador utilizado desde hace tiempo es la formalina-solución salina al 10% (10 ml de formaldehído en 900 ml de cloruro de sodio al 0.85%). Una desventaja es la inadaptabilidad de las muestras de heces fijadas con formalina para la preparación de frotis con coloración permanente. Se usa ampliamente el alcohol polivinílico (PVA) porque es posible realizar procedimiento de concentración y pueden prepararse frotis con coloración permanente. El PVA es preparado según la siguiente fórmula:

FIJADOR ALCOHOL POLIVINÍLICO: PVA

SOLUCIÓN DE SCHAUDDIN MODIFICADA

SOLUCIÓN	VOLUMEN
Ácido acético glacial	5.0 ml
Glicerina	1.5 ml
Fijador de Shauddin	93.5 ml
Alcohol polivinílico	5.0 gr.

Diluir la glicerina en el fijador de Shauddin, adicionar el ácido acético y el alcohol polivinílico, mezclar a temperatura ambiente con agitación constante. Calentar hasta que todo el polvo se disuelva y la solución se aclare. Enfriar a temperatura ambiente.

FORMA DE USO

Hacer una suspensión de heces 1: 5

FIJADOR DE SHAUDDIN

SOLUCIÓN ACUOSA SATURADA DE HgCl₂

Cloruro de mercurio II 150 gr.

Agua destilada 1000 ml

Disolver el HgCl₂ en agua por calentamiento, enfriar a temperatura ambiente, el cloruro de mercurio II en exceso cristaliza, decantar la solución sobrenadante y agitar en un frasco cerrado.

PREPARACIÓN FINAL DEL FIJADOR

Solución saturada de HgCl₂ 2 volúmenes

Alcohol etílico al 95% 1 volumen

Mezclar las dos soluciones al momento de utilizarlas

FORMA DE USO

Hacer una suspensión de materia fecal-fijador 1: 5 y homogeneizar

SOLUCIÓN CONSERVADORA MERTHIOLATE-YODO-FORMOL (MIF)

SOLUCIÓN A

SOLUCIÓN	VOLUMEN
Agua destilada	250 ml
Tintura de merthiolate (1: 100)	200 ml
Formaldehído	25 ml
Glicerina	50 ml

Diluir la glicerina en el agua destilada, adicionar la tintura de merthiolate y el formaldehído, mezclar la solución A se conoce como MF. Guardar en frasco oscuro.

SOLUCIÓN B

Lugol parasicológico

FORMA DE USO

Mezclar 1 gr. de heces con 9.40 ml de solución A y 0.6 ml de solución B en un recipiente con tapa hermética conteniendo las heces, tapar y agitar.

CONSERVADOR DE FENOL-ALCOHOL-FORMOL

SOLUCIÓN	VOLUMEN
Fenol	23 ml
Solución salina isotónica	825 ml

Diluir el fenol en la solución salina y añadir alcohol etílico al 95% 125 ml y formaldehído 50 ml. Mezclar ambas soluciones y guardar en frasco cerrado.

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LAS INFECCIONES PARASITARIAS

El enfoque serológico para la evaluación de las enfermedades parasitarias tiene mayor aplicación cuando se utilizan técnicas invasoras para el diagnóstico, en lugar de los exámenes de rutina. Por ejemplo, en la toxoplasmosis, la amebiasis extraintestinal, la triquinosis y la cisticercosis las formas parasitarias infectantes con frecuencia se alojan en la profundidad de tejidos y órganos y se necesitan biopsias por punción o quirúrgicas para confirmar el diagnóstico. En tales casos, el diagnóstico serológico puede ser posible si se consideran ciertos problemas potenciales, como fuera señalado por Galvan (7):

1. Ciertos parásitos que pasan a través de varias fases de desarrollo pueden no suministrar estímulos constantes o suficientemente continuos para estimular la formación de anticuerpos.
2. En casos específicos puede faltar la respuesta de anticuerpos debido a un estímulo de antigénico limitado o porque no hay antígenos relevantes en el sistema de prueba.
3. A menudo los antígenos utilizados en los ensayos son mezclas heterogéneas pobremente definidas o extractos de formas parasitarias. Tales preparaciones antigénicas pueden mostrar reactividad cruzada o sensibilidad inadecuada, lo que dificulta la interpretación.

4. Los pacientes que viven en áreas endémicas pueden tener títulos de anticuerpos basales más altos que los que viven en áreas no endémicas; por lo tanto, si es posible, deben averiguarse los cambios en la titulación.
5. Con frecuencia no se dispone de equipos de pruebas de origen comercial confiables para uso diagnóstico general. Aun cuando se obtengan, la incidencia de enfermedad parasitaria por lo general es tan baja en la mayor parte de los laboratorios que los reactivos envejecen.

La siguiente es una breve revisión de las enfermedades parasitarias para las que se solicita diagnóstico serológico con mayor frecuencia, e incluye las consideraciones adicionales necesarias para la interpretación de los resultados.

AMIBIASIS EXTRAINTestinal

El procedimiento de elección para la detección de enfermedad extraintestinal es la hemoaglutinación indirecta (IHA), que posee una sensibilidad de alrededor del 95%; se dispone de equipos comerciales de Calbiochem-Behring (La Jolla, CA). También pueden obtenerse reactivos comerciales de Cordis Laboratorios, Inc. (Miami, FL) para la realización de pruebas de precipitina, como contraelectroforesis (CIE) y doble difusión en gel diazar (DD).

La presencia de anticuerpos anti-amibianos puede no correlacionarse con el estado clínico o la intensidad de la infección. Los anticuerpos pueden persistir durante años después de la exposición inicial y, por lo tanto, su presencia no necesariamente distingue entre infección pasada y presente. Informes recientes indican que este problema puede superarse mediante la demostración del antígeno amibiano en inmunocomplejos circulantes, que sólo se forman en presencia de infección activa, usando una técnica de ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA).

TOXOPLASMOSIS

En casi todos los casos, el diagnóstico de toxoplasmosis activa se establece mediante la demostración de anticuerpos séricos específicos. Debido

a que títulos séricos tan altos como 1:512 pueden persistir durante años en personas normales, la interpretación de muestras individuales debe hacerse con cuidado. La prueba del colorante de Sabin-Feldman, sensible y específica, aún sirve como método de referencia. En esta prueba, se incuban taquizoítos vivos con el suero de prueba y complemento. Si hay anticuerpos específicos presentes, los taquizoítos son inactivados y no se tiñen con el azul de metileno alcalino. Sin embargo, debido a que esta prueba requiere una fuente de taquizoítos vivos y es engorrosa para realizar, actualmente se usan con mayor frecuencia otros procedimientos serológicos para detectar anticuerpos en las infecciones por *T. gondii*. El procedimiento de elección es la inmunofluorescencia indirecta (IIF) contra anticuerpos IgG e IgM, También pueden utilizarse con éxito los procedimientos de ELISA, en especial ha sido muy exitosa para la detección directa del antígeno toxoplasmático.

Después de la infección inicial con *T. gondii*, puede observarse un título de IgG sérico alto durante años, lo que no necesariamente refleja infección actual. La presencia de anticuerpos IgM es muy sugestiva de infección reciente o activa. El aumento en el título de IgG sérica en un recién nacido distingue entre la infección congénita y la transferencia transplacentaria de anticuerpos de una madre infectada. Puede haber resultados falso-positivos de anticuerpos IgM debido a la presencia del factor reumatoideo o la competencia de los anticuerpos IgG. La utilización de las técnicas ELISA o de inmunofluorescencia indirecta, midiendo los anticuerpos IgM específicos, ha minimizado este problema si sólo se miden los anticuerpos IgG, la demostración de un aumento en los títulos de muestras separadas por dos o tres semanas es muy sugestiva de infección activa.

El ELISA también ha sido usado para detectar inmunocomplejos circulantes IgG e IgM, utilizando antígenos toxoplásmicos específicos. La falta de un título de IgM en un infante no excluye la infección congénita. En los casos sospechosos deben hacerse seguimiento serológicos durante años, para comprobar la aparición de anticuerpos IgG e IgM.

TOXOCARIASIS

El reciente desarrollo de una prueba ELISA altamente específica, que utiliza un antígeno secretorio de un tercer estadio larval, ha hecho posible el serodiagnóstico de la enfermedad larva migrans visceral. Esta técnica, sin embargo, posee un valor predictivo bajo para detectar las infecciones larva migrans oculares. Las lesiones oculares debidas a otras enfermedades en pacientes con toxocariasis asintomática y un título de anticuerpos séricos positivo pueden conducir a un error diagnóstico y a tratamiento inadecuado.

PNEUMOCYSTIS

Por su baja especificidad y sensibilidad, los métodos serológicos para la detección del antígeno de quistes de *Pneumocystis* tienen aplicaciones clínicas limitadas. Además la alta prevalencia de resultados positivos en la población general limita aun más el diagnóstico serológico. La detección de anticuerpos monoclonales contra el antígeno trofozoítico podría, en potencia, mejorar su especificidad y sensibilidad.

ENFERMEDAD HIDATÍDICA

Las reacciones serológicas cruzadas de las pruebas de anticuerpos equinocócicos con otras enfermedades parasitarias, cirrosis hepática y colagenopatías han disminuido sustancialmente con el desarrollo de un antígeno selectivo denominado arco-5. La reacción con este antígeno puede producirse también en la cisticercosis; sin embargo, el diagnóstico diferencial puede ser establecido clínicamente.

CISTICERCOSIS

Un número significativo de pacientes infectados no son reactivos con el antígeno de prueba utilizado. El serodiagnóstico mejora en pacientes con quistes ventriculares y con meningitis, en especial si se estudia el líquido cefalorraquídeo (LCR). Pueden producirse reacciones cruzadas en pacientes con equinococosis e infecciones por *Taenia saginata*.

RESUMEN DE LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS

Las distintas pruebas serodiagnósticas para enfermedades parasitarias han sido revisadas por Walls. La prueba hemaglutinación indirecta (IHA) posee la ventaja de que eritrocitos tomados pueden absorber una variedad de antígenos, lo que permite un método único para la detección de numerosas enfermedades. Esta prueba es fácil de realizar y no requiere equipo especial. La tendencia hacia la actividad inespecífica puede ser minimizada utilizando controles celulares no sensibilizados. Según Walls, la prueba de hemaglutinación indirecta es el método de elección para el serodiagnóstico de amibiasis, cisticercosis, equinocosis, filariasis y estrogiloidiasis.

La inmunofluorescencia (IIF) utiliza antígenos especiales y, por tanto, es más específica que la prueba hemaglutinación indirecta. Es más difícil de realizar e interpretar y se necesita un microscopio de inmunofluorescencia especial y experiencia técnica. Sin embargo, la posibilidad de utilizar antiglobulinas G, M y A marcadas con fluoresceína específica da a la inmunofluorescencia la clara ventaja de identificar, en potencia, los estadios de la enfermedad parasitaria. Walls recomienda esta técnica para el serodiagnóstico de leishmaniasis, paludismo, esquistosomiasis y toxoplasmosis.

El ensayo inmunoenzimático (ELISA) está basado en el mismo principio que la inmunofluorescencia, excepto que se utiliza una enzima marcada y aparición de color, en lugar de fluorescencia. El ELISA es muy sensible y específico y puede utilizarse con casi todos los antígenos; sin embargo, se requieren estrictos controles de calidad porque existe la

posibilidad de variaciones técnicas y de uniones con reactivos inespecíficos. El procedimiento ELISA tiene amplio uso en el serodiagnóstico de las enfermedades parasitarias; es, en la actualidad la prueba primaria para toxocariasis y para la detección de anticuerpos IgM en la toxoplasmosis.

La prueba de fijación de complemento, se utiliza sólo en raras ocasiones para el serodiagnóstico de la enfermedad de Chagas, la paragonimiasis y la leishmaniasis. Las pruebas de inmunolectroforesis y doble difusión de precipitinas son empleadas rara vez y tienen papeles subordinados con el diagnóstico de la amibiasis, la cisticercosis y la triquinosis. Las técnicas de aglutinación, que usan partículas transportadoras como látex, bentonita y colesterol, pueden obtenerse sólo en centros de consulta, como los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). Aún se recomienda la floculación de la bentonita para el serodiagnóstico de triquinosis y se realiza en pocos laboratorios de consulta.

Sobre la base de la experiencia de los CDC en la realización de pruebas serológicas para varias enfermedades parasitarias, (1) ha publicado los niveles siguientes como títulos significativos representativos:

Amibiasis (IHA)	1:256
Enfermedad de Chagas (CF, IHA)	1:8
Equinococosis (IHA)	1:28
Cisticercosis (IHA)	1:128
Equinococosis (IHA)	(Arco-5)
Filariasis (IHA)	1:256
Leishmaniasis (DAT)	1:128
Paludismo (IIF)	1:64
Paragonimosis (CF)	1:8
Esquistosomiasis (ELISA)	1:64
Toxocariasis (ELISA)	
Visceral	1:32
Ocular	1:8

Toxoplasmosis (IIF)	
IgG	1:256
IgM	1:16
Triquinosis (BFT)	1:5

Se están desarrollando pruebas para la detección directa de antígenos solubles de protozoos y helmintos en varios fluidos; sin embargo, aún se requieren estudios clínicos correlativos antes de establecer su utilidad. También se han usado pruebas intradérmicas para detectar la exposición a la enfermedad hidatídica (reacción Casoni) y para diagnosticar la leishmaniasis visceral (prueba de Montenegro). Sus mayores desventajas residen en su baja especificidad, reacciones falso-positivas en presencia de otras infecciones parasitarias, inducción de producción de anticuerpos y el riesgo potencial de causar reacciones anafilácticas.

Los medios deben ser informados sobre las limitaciones potenciales del enfoque serológico de las enfermedades parasitarias. La interpretación de los resultados de las pruebas serológicas debe hacerse en conjunción con la información derivada de la historia clínica, el examen físico y otros datos de laboratorio. Si las muestras deben enviarse a laboratorios de consulta, puede haber demora en la obtención de los resultados de las pruebas y, en algunos casos, es posible que sea necesario instituir un tratamiento empírico antes de la confirmación del diagnóstico presuntivo (10).

ENSAYO INMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

El método de ELISA debe este nombre a sus siglas en inglés: *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*, utilizada como principio de reacción antígeno-anticuerpo específica, que se hace evidente con el empleo de anti-inmunoglobulinas acopladas a una enzima (peroxidasa, fosfatasa alcalina). Este conjugado (IgG-enzima) reacciona de manera específica con su antígeno, sin perder sus características de reactividad inmunológica o enzimática. La acción de las enzimas sobre un sustrato genera productos de reacción coloridos, lo que permite la realización de pruebas cualitativas interpretadas por la intensidad de color desarrollado y de pruebas cuantitativas utilizando un colorímetro o espectrofotómetro (Lector de ELISA).

La técnica de ELISA tiene dos variantes

1. Para determinación de anticuerpos.
2. Para captura de antígeno.

En parasitología la técnica de ELISA tiene gran aplicación en el diagnóstico, tanto en parasitosis intestinales como extraintestinales.

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPO: en algunas parasitosis es difícil encontrar la presencia del parásito, pero podemos detectar la respuesta inmune del paciente frente a la presencia de un agente extraño, esto es posible mediante la cuantificación de anticuerpos específicos; como en el caso de las infecciones por *Toxoplasma gondii*, *Tenia solium* (fase larvaria cisticerco), *Toxocara canis* y *Entamoeba histolytica*. La prueba se realiza en muestras

biológicas como suero, leche, saliva, lagrimas, humor acuosa y líquido cefalorraquídeo.

CAPTURA DE ANTÍGENO:

Las moléculas antigénicas de parásitos presentes en diversos productos biológicos pueden ser identificadas con el empleo de anticuerpos específicos. La técnica que se utiliza para este fin es la captura de antígeno en heces, coproantígeno, para el caso de infecciones intestinales por *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* y *Entamoeba histolytica* (6).

ANTICUERPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* (CLASE IgM, EQUIPO COMERCIAL) (15)

1. Diluir los sueros testigo positivo y negativo, calibrador y problema con buffer de dilución 1:41 (400 µl de buffer + 10µl se suero).
2. Adicionar 200 µl de suero diluido a un tubo con 200 µl de solución para adsorber.
3. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos.
4. Colocar en número adecuado de pozos en una placa y adicionar 100 µl de los sueros adsorbidos a cada pozo, cubrir la placa con parafilm.
5. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos.
6. Retirar el contenido de los pozos por inversión, sacudir con fuerza sobre una gasa y depositar 200µl de buffer de lavado dilución 1:20 a cada pozo, retirar y eliminar el exceso sobre la gasa. Este lavado se repite tres veces.
7. Adicionar 100µl de sustrato a cada pozo y cubrir con parafilm.
8. Incubar a temperatura ambiente durante 320 minutos.
9. Hacer tres lavados iguales como en el punto 6

10. Adicionar 100µl de conjugado o sustrato a cada pozo, cubrir con parafilm.
11. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
12. Detener la reacción con 100µl de ácido sulfúrico 1N.
13. Leer a 450 nm.
14. Resultados de referencia: mayor de 1.1 positivo y menos de 1.1 negativo

ANTICUERPOS ANTI- (*Toxoplasma gondi* CLASE IgG, EQUIPO COMERCIAL) (15)

1. Diluir los sueros testigo positivo y negativo, calibrador y problema con buffer de dilución 1:21 (200 µl de buffer + 10µl de suero).
2. Colocar el número adecuado de pozos en placa y adicionar 100µl de sueros diluidos a cada pozo.
3. La prueba continúa en el punto 5 de la técnica para los anticuerpos clase IgM.
4. Resultados: mayor de 1.1 positivo y menor de 1.1 negativo.

ANTICUERPOS ANTI-*Entamoeba histolytica* (CLASE IgG, EQUIPO COMERCIAL) (15)

1. Diluir los sueros problema 1:64 con búfer de dilución (630µl de buffer+ 10µl de suero).
2. Chocar el número adecuado de pozos en la placa y adicionar 100µl de sueros testigos (sin diluir) y de los sueros problema diluidos cubrir con parafilm.
3. Incubar a temperatura ambiente 10 minutos.
4. Realizar tres lavados con buffer de lavado y sacudir sobre gasa.
5. Adicionar 100µl de conjugado (rojo) a cada pozo y cubrir con parafilm.
6. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.

7. Lavar tres veces con buffer de lavado y una vez con agua destilada, sacudir sobre una gasa.
8. Adicionar 5 ml de sustrato A y 50 µl de estrato B a cada pozo y cubrir con parafil.
9. Incubar a temperatura ambiente durante 5 minutos.
10. Detener la reacción con 100µl de ácido fosfórico 1 N (rosa).
11. Leer a 450 nm.
12. Resultados de referencia: mayor de 1.1 positivo y menos de 1.1 negativo

CAPTURA DE ANTÍGENO DE *Giardia lamblia*, EQUIPO COMERCIAL LMD

1. Diluir las muestras de materia fecal 1:5 en buffer de lavado, sedimentar y utilizar el sobrenadante.
2. Colocar el número adecuado de pozos en la placa y adicionar 100µl de sobrenadante a cada pozo, incluyendo un testigo positivo y uno negativo sin diluir, cubriendo con parafilm.
3. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos.
4. Lavar tres veces con buffer, sacar sobre una gasa.
5. Adicionar a cada pozo 100µl de anticuerpo anti-coproantígeno (azul) y cubrir con parafilm.
6. Incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
7. Realizar tres lavados con buffer de lavado.
8. Repetir desde el punto cinco de la técnica para anticuerpos de *E. histolytica*.
9. Resultados de referencia: mayor de 1.1 positivo y menos de 1.1 negativo

Métodos de identificación para el diagnóstico de las enfermedades parasitarias más comunes en el hombre

Examen Parasitoscópico	Muestra para el examen	Parasitosis	Forma parasitaria que se busca	Observaciones
CPS directo en fresco	Materia fecal diarreica, líquida con moco y/o sangre. Materia fecal obtenida por cucharilla rectal.	Amibiasis aguda Giardiasis aguda Balantidiasis aguda Tricomoniasis intestinal Estrongiloidosis Isosporosis Blastocistocis	Trofozoito * * * Larvas rabditoide Ooquiste Fase granular	El examen debe realizarse en un lapso no mayor de horas posterior a la recolección de la muestra.
CPS Faust*	Materia fecal pastosa o dura.	Amibiasis crónica Giardiasis crónica Balantidiasis crónica Isosporosis Ascariasis Tricocefalosis Uncinariasis Himenolepisis Enterobiasis Teniasis Estrongiloidosis	Quiste * * * Ooquiste Huevo * * * * * Larva	Este examen no concentra huevos infértiles de <i>Ascaris lumbricoides</i> ni de Tremátodos Concentra por flotación.
Sheather*	Heces diarreicas recientes	Criptosporidiosis	Ooquiste	Concentrada por flotación
Willis*	Heces pastosas o duras.	Ascariasis Tricocefalosis Uncinariasis Estrongiloidosis	Huevo * *	CPS cualitativo útil en estudios epidemiológicos; concentra por flotación. Las larvas de <i>S. stercoralis</i> y los quistes de protozoarios, se deforman.
CONATIN	Heces diarreicas	Criptosporidiosis	Ooquiste	<i>Cryptosporidium</i> se tife de color rojo que sobresale en fondo verde.
Método de concentración de microfilarias	Sangre obtenida por punción capilar o venosa	Elefantiasis o microfilariasis y Incoercosis	Larvas microfilarias	Concentración de larvas por sedimentación
ELISA	Suero	Amibiasis Giardiasis Toxoplasmosis extraintestinal	Anticuerpos de tipo IgM, IgG y antígenos	Métodos colorimétricos
CPS Formol-eter (Ritche)	Materia fecal pastosa o dura	Idem. Faust. Fasciolosis (Principalmente)	Huevo operculado	Este procedimiento concentra además mucho detritus que dificultan la observación microscópica. Concentra por sedimentación. Util para detectar la mayoría de estructuras parasitarias
Sedimentación simple	Material fecal pastosa o dura	Fasciolosis Ascariasis	Huevo Huevos no fértiles	Es sencillo, barato y se logran excelentes resultados.
Stoll	Material fecal de cualquier consistencia	Ascariasis Tricocefalosis Uncinariasis	Huevo * *	CPS cuantitativos que se emplea para determinar parasitosis masivas: Ascariasis $\geq 50,000$ h ml h. Tricocefalosis ≥ 1.000 h ml h. Uncinariasis $\geq 5,000$ h ml h.
Kato-Miura Kato -Katz	Heces pastozas o duras conservadas en refrigeración	Ascariasis Tricocefalosis Uncinariasis	Huevo * *	CPS cuantitativos útiles para determinar parasitosis masivas. Sencillos y baratos.
Tamizado	Materia fecal colectada durante 24 y 48 horas	Teniasis Enterobiasis Uncinariasis Trichuriasis	Ecólex y proglotidos adulto	Método útil para evaluar eficacia terapéutica o identificar adulto de helmintos
Baerman	Material fecal pastosa, reciente	Estrongiloidosis Balantidiasis	Larvas Trofozitos	De gran utilidad en la concentración de larvas de <i>S. stercoralis</i> y trofozoitos de <i>B. coli</i> . Concentra por termotropismo.
Graham.	Materia obtenida de la región perianal y	Enterobiasis Teniasis Enterobiasis	Huevo larvado Huevo Huevo larvado	La muestra debe obtenerse antes de que el paciente se bañe o defeque. Se

(Raspado perianal)	perineal. Material obtenido de la región vulvar.			recomienda hacer el examen de 4 a 6 veces. Un examen negativo no excluye enterobiasis.
Tinción de Ziehl- Neelsen modificada. Tinción de Kinyoun	Heces diarreicas *	Criptosporidiosis *	Ooquistes *	<i>Cryptosporidium</i> se tiñe de color rojo que sobresale en fondo verde. Los ooquistes se tiñen de color rojo en fondo azul
Cultivo en papel filtro (Harada-Mori)	Heces recientes (no refrigeradas)	Uncinariasis Estrongiloidosis	Larva filariforme	Es útil para fines epidemiológicos de diagnóstico.
Cultivo en medio huevo/sangre	Heces diarreicas con moco y/o sangre	Amibiasis Balantidiasis Tricomoniasis intestinal Blastocistosis	Trofozoito Fase granular	Examen poco usado.
Cultivo en medio N. N. N.	Sangre	Leishmaniasis Tripanosomiasis	Promastigote Epimastigote	Examen poco usado
Xenodiagnóstico	Sangre	Enf. de chagas	Tripanomastigote	El estudio se realiza usando Triamonas. El resultado se obtiene a los 15-30 días.
Examen en fresco	Exudado vaginal, uretral o secreción prostática	Tricomoniasis uro-genital	Trofozoíto	La identificación del parásito se basa en su motilidad. <i>T. vaginalis</i> , también puede observarse en sedimento urinario.
	LCR	Meningoencefalitis amibiana primaria	Trofozoíto	La especie que generalmente se encuentra es <i>Naegleria. fowleri</i> .
	Espujo	Estrongiloidosis Paragonimiasis Uncinariasis Ascariasis Hidatidosis Amibiasis hepática	Larva Huevo Larva Larva Escólices Trofozoíto	La muestra puede ser concentrada por la técnica de formol-éter, excepto en la amibiasis hepática.
Examen en fresco	Contenido duodenal	Giardiasis Fsciolosis Estrongiloidosis	Trofozoito Huevos Larvas	La muestra puede obtenerse mediante sondeo, aspirado o cápsula de Beal (Entero- Test) Útil cuando los exámenes CPS han resultado negativos.
	Aspirado rectal Sigmoidoscopia	Amibiasis Balantidiasis	Trofozoíto	La muestra bde examinarse de inmediato.
	(i) Aspirado hepático	Amibiasis	Trofozoíto	Recurso poco usados. E lexamen debe realizarse de inmediato.
	Aspirado del borde úlceras cutánea	Amibiasis	Trofozoíto	
Frote teñido con con Giemsa	Aspirado o lavado broncoalveolar Impronta de la úlcera Impronta de vísceras, médula ósea, etc.	Neumocistosis Leishmaniasis cutánea Leishmaniasis visceral	Trofozoito Amastigote	La muestra de elección es la biopsia obtenida a cielo abierto.
Frote sanguíneo Y gota gruesa	Sangre obtenida por punción capilar o venosa.	Malaria Enf. de Chagas Leishmaniasis Mansonelosis Babesiosis	Trofozoito, esquizonte y/o gemetocitos Tripomastigotes Amastigotes Microfilarias Trofozoíto	Un examen es suficiente para confirmar el diagnóstico, sobre todo en parasitemias bajas.
Histopatología	Biopsia: -Superficial de piel -Nódulo subcutáneo -Músculo -Duodeno -Medula ósea -Úlcera cutánea -Nódulo linfático -Pulmón	Oncocercosis Oncocercosis (+) Cisticercosis (+) Triquinosis Girdiasis Criptosporidiosis Microsporidiosis Leishmaniasis visceral Leishmaniasis cutánea Amibiasis cutánea Leishmaniasis visceral Enf. De Chagas Amibiasis cutánea Toxoplasmosis Neumocitosis	Microfilarias Larva Trofozoito Ooquiste Espora Amastigote Amastigote Trofozoito Amastigote Amastigote Quiste (Bradizoitos) Quistes trofozoíto	Este estudio generalmente se puede realizar en Hospitales de 3er. Nivel o en Centros de referencia que cuenten con servicio de Patología.

* Puede utilizarse muestra refrigerada durante 24-48 h. o conservada en formaldehído al 10%.

(+) Biopsia excisional.

CPS = Coproparasitoscópico

CONATIN 0 Concentración, aclaramiento y tinción

ELISA = Ensayo inmunoenzimático

(1) Tiene indicaciones precisas.

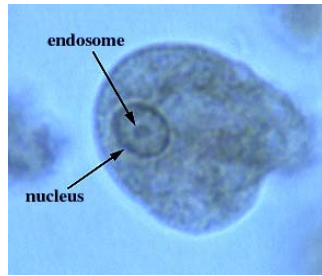
ATLAS

**DE LAS FORMAS
PARASITARIAS**

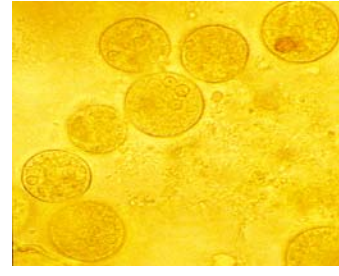
**MÁS COMUNES EN EL
HOMBRE**



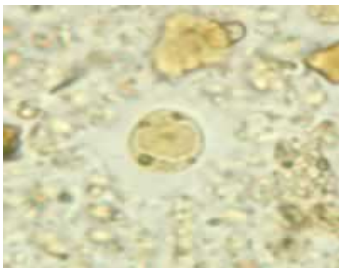
Quiste
Entamoeba histolytica



Trofozoíto
Entamoeba histolytica



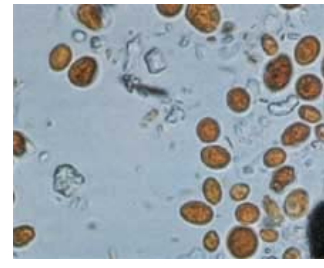
Quiste
Entamoeba coli



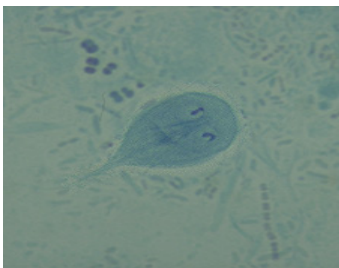
Blastocystis hominis



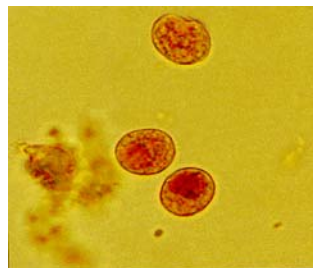
Quiste *Blastocystis hominis*



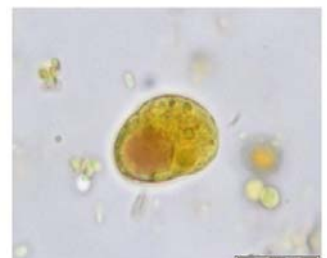
Quiste de
Giardia lamblia



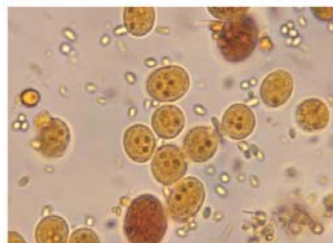
Trofozoíto
Giardia lamblia



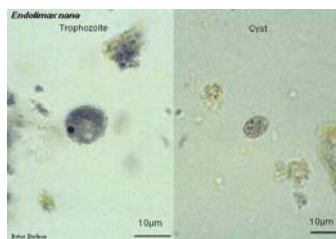
Quistes *Iodamoeba bütschlii*



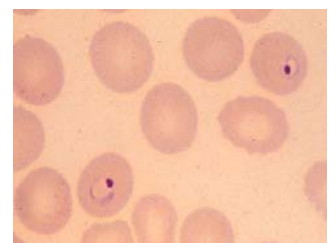
Quistes *Iodamoeba bütschlii*



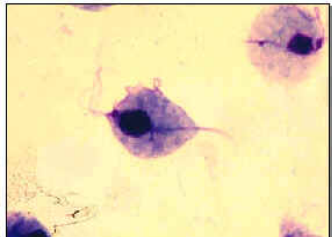
Quistes *Endolimax nana*



Quistes *Endolimax nana*



Trofozoítos
Plasmodium sp.



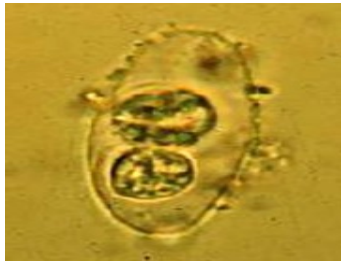
Trofozoítos *Trichomonas vaginalis*



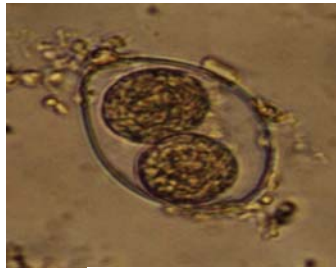
Trofozoítos *Trichomonas vaginalis*



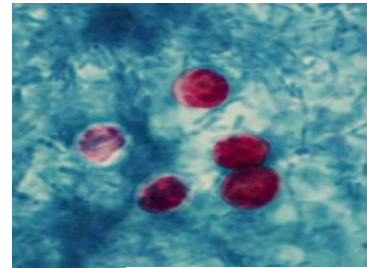
Trofozoítos *Plasmodium* sp.



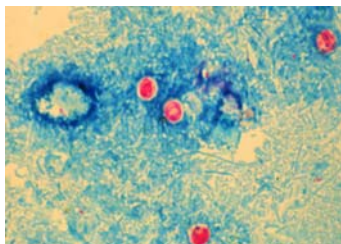
Ooquiste *Isopora belli*



Ooquiste *Isopora belli*



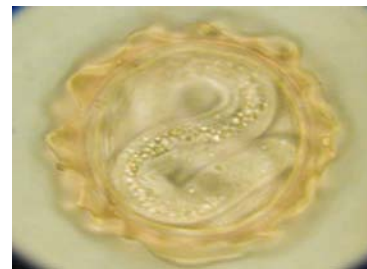
Ooquistes *Cryptosporidium parvum*



Ooquistes *Cryptosporidium parvum*



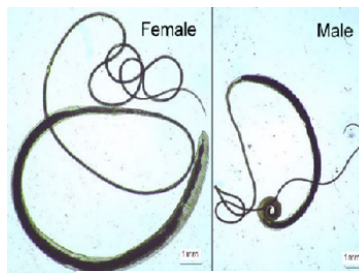
Adulto *Ascaris lumbricoides*



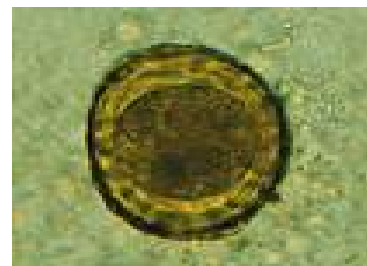
Huevo infectante *Ascaris lumbricoides*



Huevo *Trichuris trichiura*



Adultos *Trichuris trichiura*



Huevo corticado de *Ascaris lumbricoides*



Huevo *Enterobius vermicularis*



Larva *Strongyloides stercoralis*



Fase migratoria
Ascaris lumbricoides



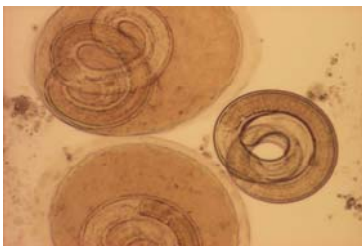
Larva *Uncinaria*



Huevos *A. lumbricoides*,
T. trichiura y *Uncinaria*



Adulto *Enterobius vermicularis*



Larvas *Trichinella spiralis*



Larva *Trichinella spiralis*



Huevos *Tenia sp.*



Larvas *Trichinella spiralis*



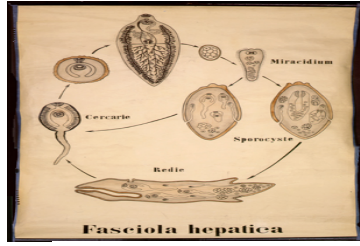
Proglótido a *Tenia saginata*



Proglótidos maduros
Taenia spp.



Huevo *Fasciola* spp.



Ciclo de vida *Fasciola* spp.



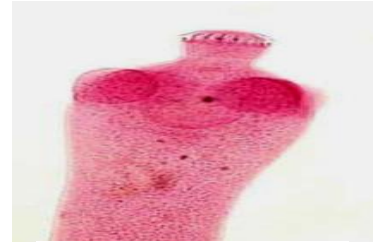
Cápsula ovígera *Dipylidium caninum*



Excolex *Taenia solium*



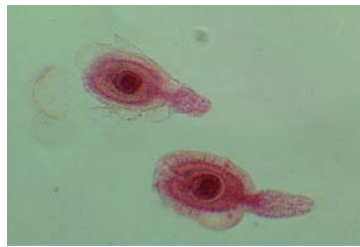
Adulto *Fasciola hepática*



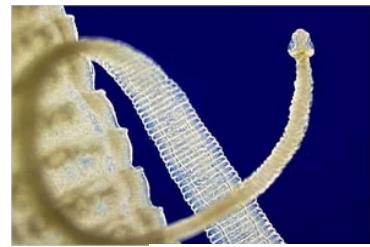
Escolex *Hymenolepis nana*



Huevo *Hymenolepis diminuta*



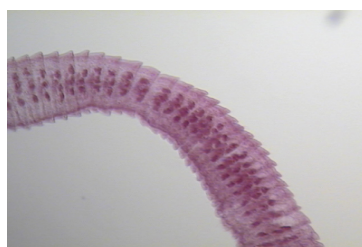
Larvas *Hymenolepis* spp.



Adulto *Hymenolepis nana*



Huevo de *Hymenolepis nana*



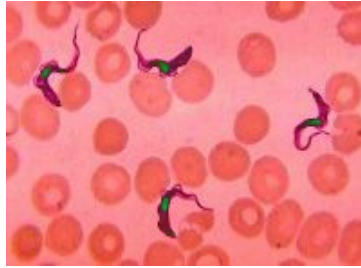
Proglótidos maduros de *Hymenolepis nana*



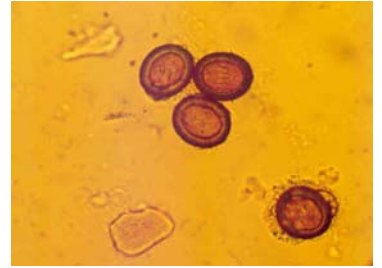
Balantidium coli



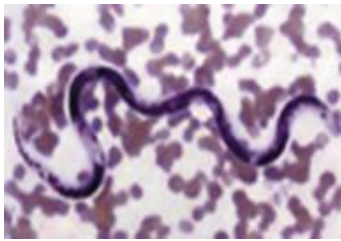
Trypanosoma cruzi



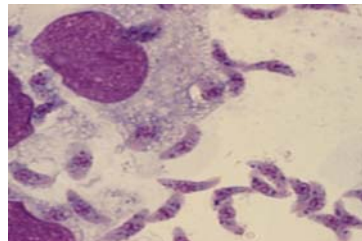
Trypanosoma cruzi



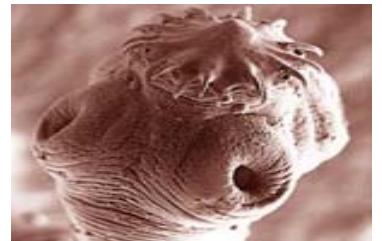
Huevos de *Taenia* spp



Larva de microfilaria



Toxoplasma gondii



Escolex de cisticerco



Huevo de *Fasciola hepática*



Huevo de uncinaria



Larvas de *Onchocerca volvulus*

BIBLIOGRAFÍA

1. **Aties, N.** 1994. Parasitología clínica. 3ª ed. Ediciones Mediterráneo. Santiago de Chile. 451 pp.
2. **Beaver, E. C., Rusell, P. F.** 1981. Parasitología Clínica. 3ª edición. Editorial Salvat. 1981.
3. **Brown, H. W.** 1970. Parasitología clínica. 3ª edición. Editorial Interamericana. México. 362 pp.
4. **Chio, W. M.** 1986. Parásitos intestinales: Diagnóstico parasitoscópico Y CRITERIOS TERAPEUTICOS. Ed. Revista Mexicana de Pediatría. México.
5. **De Haro, A. I. y cols.** 1995. _Diagnostico morfológico de las parasitosis._ 2ª ed, Méndez Editores. México. 419 pp.
6. **Giono, C. S. y cols.** 1994. Diagnostico de laboratorio de las infecciones gastrointestinales. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE). SSA. México. 325 pp.
7. **Golvan, Y. J. y Drohuet, E.** 1977. Técnicas en parasitología y micología. 1ª edición. Editorial Jims. Barcelona.

8. **Jara, A. F., Calvo, M. L.** 1982. Instructivo de parasitología II. 1ª edición. Editorial I. P. N.
9. **Jímenez, R. B. L.** 1988. Estúdio comparativo entre el método C. P. S. de sedimentación de formol-eter y modificaciones del C. P. S. De flotación de Faust. Tesis recepcional. Esc. de Cs. Qs. B. U. A. P. México.
10. **Koneman, E. W., Allen, S. D., Dowell, V. R., Janda, W. M., Somers, H. M. y Winn, W. C.** 1997. Diagnóstico microbiológico. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana S. A. México. 907 pp.
11. **Linch, R. M.** 1984. Las geohelmintiasis en México y perspectivas de salud. Salud pública. México.
12. **Ramírez, G. A. D. y Ramírez, M. E.** 1994. Manual de laboratorio de parasitología II. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Unidad Académica de Ciencias Químicas. 118 pp.
13. **Tay - Lara y Velasco – Gutiérrez.** 1996. Parasitología médica. 6ª edición. Editorial Méndez Editores S. A de C.V. México. 483 pp.
14. **Vergara, M. R. G.** 1988. Modificación cuantitativa de la técnica de Ferreira. Tesis recepcional Esc. de Cs. QS. B. u. a. p.

15. Alper, E. I. 1975. Counter electrophoresis in the diagnosis of amebiasis. *Am. J Gastroenterol.* 68: 63.