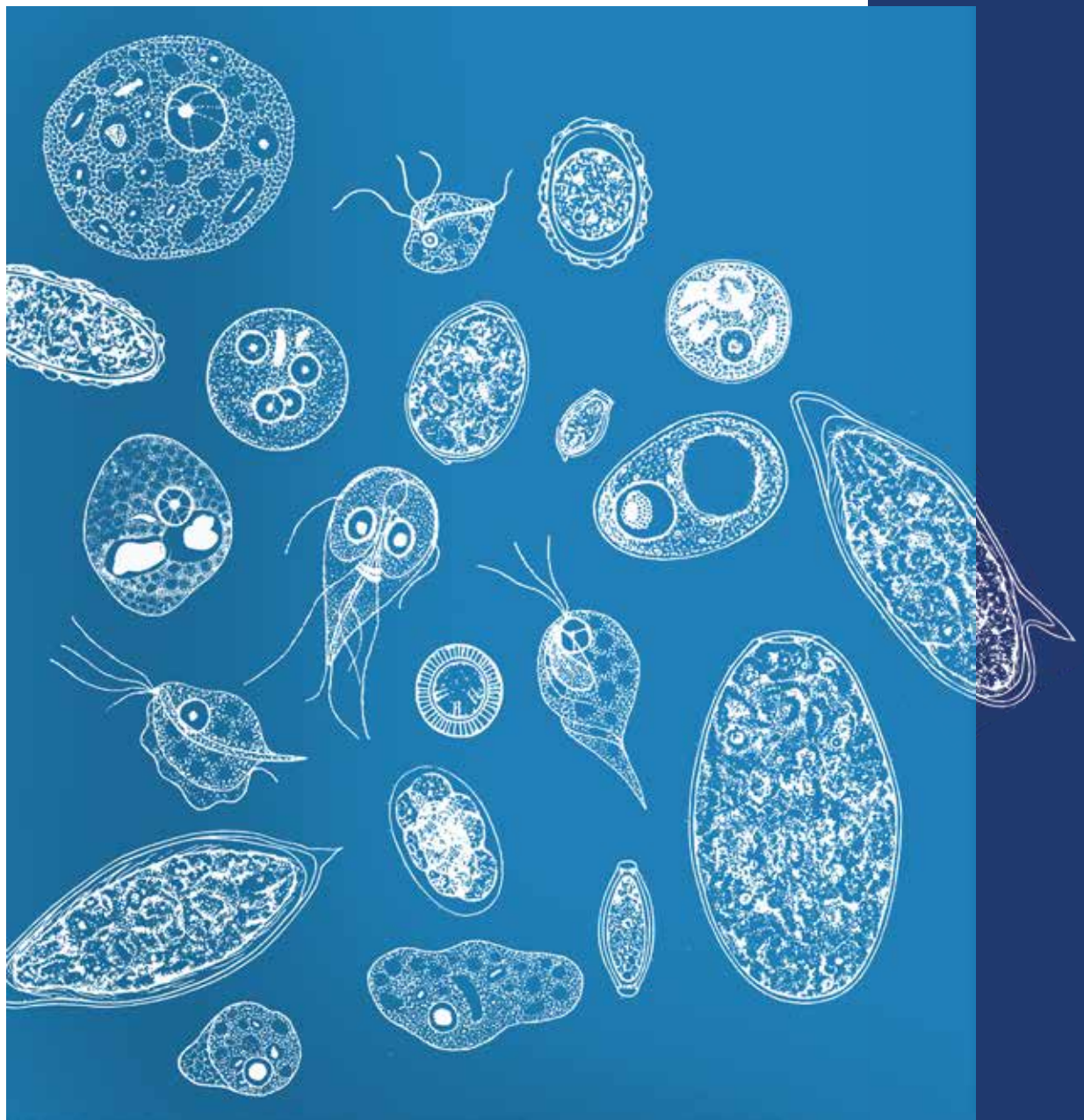


Medios auxiliares

para el diagnóstico de las
parasitosis intestinales



segunda edición

OPS

Organización
Panamericana
de la Salud

Organización
Mundial de la Salud
SECTOR REGIONAL DE LAS
AMÉRICAS

La planificación y la elaboración de estos medios auxiliares estuvieron a cargo de

Profesor Marco Genchi, Departamento de Ciencias Veterinarias, Universidad de Parma, Parma (Italia)

Sr. Idzi Potters, Licenciatura, Departamento de Ciencias Clínicas, Instituto de Medicina Tropical, Amberes (Bélgica)

Sra. Rina G. Kaminsky, Máster, Departamento de Pediatría, Escuela de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma, Honduras y Servicio de Parasitología, Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Universitario, (Honduras)

Dr. Antonio Montresor, Quimioterapia Preventiva y Control de Transmisiones, Departamento de Control de Enfermedades Tropicales Desatendidas, Organización Mundial de la Salud, Ginebra (Suiza)

Dr. Simone Magnino, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Bruno Ubertini, Pavia (Italia)

Agradecimientos

La Organización Mundial de la Salud (OMS) expresa su agradecimiento al Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini" por su apoyo financiero y técnico. También se agradece al Instituto de Medicina Tropical de Amberes por poner a disposición su extensa biblioteca de imágenes.

Se agradece también a las siguientes personas

Dr. Shaali Ame, Centro Colaborador de la OMS para las Enfermedades Tropicales Desatendidas, Unidad de Parasitología, Laboratorio de Salud Pública Ivo de Carneri, Pemba (República Unida de Tanzania)

Profesor Giuseppe Cringoli, Departamento de Medicina Veterinaria y Producciones Pecuarias, Universidad de Nápoles, Federico II, Nápoles (Italia)

Dra. Yvette Endriss, Instituto Suizo de Salud Tropical y Pública, Basilea (Suiza)

Profesora Laura Rinaldi, Departamento de Medicina Veterinaria y Producciones Pecuarias, Universidad de Federico de Nápoles II, Nápoles (Italia)

Dra. Francesca Tamarozzi, Centro Colaborador de la OMS para la Epidemiología, la Detección y el Control de la Equinococosis Quística y Alveolar, Instituto Nacional de Salud, Roma (Italia)

Dr. Fabio Tosini, Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para Parásitos, Instituto Nacional de Salud, Roma (Italia)

Dr. Jürg Utzinger, Instituto Suizo de Salud Tropical y Pública, Basilea (Suiza)

Versión oficial en español de la obra original en inglés

Bench aids for the diagnosis of intestinal parasites

© World Health Organization 2019

ISBN: 978-92-4-151534-4

Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales

© Organización Panamericana de la Salud, 2020

ISBN: 978-92-75-32205-5

eISBN: 978-92-75-32206-2



Algunos derechos reservados. Esta obra está disponible en virtud de la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 3.0 Organizaciones intergubernamentales de Creative Commons (CC BY-NC-SA 3.0 IGO); <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/deed.es>.

Con arreglo a las condiciones de la licencia, se permite copiar, redistribuir y adaptar la obra con fines no comerciales, siempre que se utilice la misma licencia o una licencia equivalente de Creative Commons y se cite correctamente, como se indica a continuación. En ningún uso que se haga de esta obra debe darse a entender que la Organización Panamericana de la Salud (OPS) respalda una organización, producto o servicio específicos. No está permitido utilizar el logotipo de la OPS.

Adaptaciones: si se hace una adaptación de la obra, debe añadirse la siguiente nota de descargo junto con la forma de cita propuesta: "Esta publicación es una adaptación de una obra original de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Las opiniones expresadas en esta adaptación son responsabilidad exclusiva de los autores y no representan necesariamente los criterios de la OPS".

Traducciones: si se hace una traducción de la obra, debe añadirse la siguiente nota de descargo junto con la forma de cita propuesta: "La presente traducción no es obra de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). La OPS no se hace responsable del contenido ni de la exactitud de la traducción".

Forma de cita propuesta: *Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales*. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2020. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Datos de catalogación: pueden consultarse en <http://iris.paho.org>.

Ventas, derechos y licencias: para adquirir publicaciones de la OPS, véase www.publications.paho.org. Para presentar solicitudes de uso comercial y consultas sobre derechos y licencias, véase www.paho.org/permissions.

Materiales de terceros: si se desea reutilizar material contenido en esta obra que sea propiedad de terceros, como cuadros, figuras o imágenes, corresponde al usuario determinar si se necesita autorización para tal reutilización y obtener la autorización del titular del derecho de autor. Recae exclusivamente sobre el usuario el riesgo de que se deriven reclamaciones de la infracción de los derechos de uso de un elemento que sea propiedad de terceros.

Notas de descargo generales: las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la OPS, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la OPS los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La OPS ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación. No obstante, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la OPS podrá ser considerada responsable de daño alguno causado por su utilización.

OPS-CDE/VT-2020-02

Diseño e ilustración por Andrea Iacobuzio.

Portada y contraportada: diseño gráfico de Marco Genchi, basado en las claves de identificación de la primera edición.

Introducción

Esta segunda edición de *Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales* tiene por objeto servir tanto de herramienta práctica en el diagnóstico de las parasitosis intestinales dirigida a los trabajadores de laboratorio y sobre el terreno, y de material didáctico para los estudiantes y el personal en formación. Las láminas están dispuestas en ambas caras: el folio anverso con microfotografías para la identificación de los huevos, las larvas, los trofozoítos, los quistes y los ooquistes presentes en las heces, y el folio reverso dedicado a los diferentes métodos copromicroscópicos (protocolos) y las principales técnicas de tinción utilizadas en parasitología.

Se ha prestado especial atención a todo el contenido gráfico e ilustrado. La decisión de incluir el esquema de un huevo de *Ascaris lumbricoides* en su tamaño relativo al lado de cada estructura parasitaria responde a la intención de que se puedan visualizar las dimensiones que en la práctica se deben buscar cuando se examinan las muestras en un microscopio. Con cada imagen, se presenta el tamaño del parásito y una breve descripción que ayuda a la identificación microscópica.

Se incluyen además dos láminas de síntesis, una sobre los helmintos y otra sobre los protozoos, con el fin de ofrecer un panorama visual de las diferentes presentaciones de los elementos parasitarios.

Los medios auxiliares se elaboraron en un formato plastificado impermeable que es sólido y fácil de usar en la mesa de laboratorio. Se recomienda usar esta publicación a todos los profesionales de salud que se ocupan del diagnóstico corriente de las parasitosis intestinales.

lámina de identificación
con codificación de color

OPS Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales, segunda edición

Lámina 2
Nematodos

imagen del parásito

breve descripción

parásito de referencia para el tamaño: huevo de *Ascaris lumbricoides*

dibujo esquemático del parásito y tamaño proporcional al huevo de *A. lumbricoides*

Ancylostomatidae (*Ancylostoma braziliense*, *A. caninum*, *A. duodenale*, *Necator americanus*) Los huevos no se pueden diferenciar al microscopio. Son ovoides, amarillo-grisáceos y tienen una cubierta delgada. En las heces frescas contienen una mórula de 4 a 6 células. Si se dejan a temperatura ambiente unas pocas horas, el número de células aumentará (derecha). Tamaño: 60-75 x 35-40 µm

A. duodenale* y *N. americanus Cápsulas bucales de parásitos adultos. Nótese la diferencia entre los dientes afilados de *A. duodenale* y las placas cortantes semilunares de *N. americanus*. Fijados en formol y aclarados con alcohol al 70% y glicerina

Buenas prácticas de laboratorio y bioseguridad

A continuación se indican algunas prácticas y principios básicos de bioseguridad que deben seguirse en el laboratorio. Para información más detallada, consulte:

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/43255>.

En general, un laboratorio de parasitología se clasifica como un laboratorio básico de nivel de bioseguridad 2 (véase <http://www.hse.gov.uk/pubns/misc208.pdf>). Esta definición exige aplicar buenas prácticas de laboratorio, usar equipos de protección personal y exhibir el signo internacional de peligro biológico. El laboratorio también tiene que estar dotado de cámaras de seguridad biológica y procedimientos específicos de desinfección y tratamiento de los materiales biológicos, que se utilizan también en caso de algún derrame accidental. Es necesario reglamentar el acceso y debe existir espacio suficiente para las mesas y el equipo de laboratorio, que se disponen de manera que permitan una limpieza adecuada. El laboratorio tiene que proveer instalaciones para guardar la ropa y los artículos personales a todos los miembros del personal, y contar con zonas de almacenamiento para las muestras, los reactivos y el equipo. Asimismo, es fundamental que las zonas "limpias" y "sucias" se diferencien claramente y estén bien iluminadas y ventiladas; que existan barreras contra los artrópodos si las ventanas pueden abrirse; que se disponga de una fuente de agua de acceso fácil; y que las mesas, las paredes y los pisos sean lisos, hidrófobos y fáciles de limpiar y desinfectar. Por último, el laboratorio tiene que estar separado de los vestuarios y de toda zona recreativa destinada al personal.

Los desinfectantes de uso corriente son el hipoclorito de sodio (lejía), el etanol al 70 % o el isopropanol y los compuestos de amonio cuaternario. La lejía es fácil de conseguir y de costo bajo. Cuando se diluye al 5% o 10%, la lejía es apropiada para desinfectar las mesas y las zonas de trabajo. Los alcoholes son eficaces para descontaminar las superficies de acero inoxidable y eliminar los residuos de lejía de los metales, a fin de reducir al mínimo la corrosión. Los compuestos de amonio cuaternario se deben utilizar después de haber eliminado las sustancias orgánicas, que disminuyen su efectividad.

Con respecto a la eliminación de desechos, en condiciones ideales todo material infectado o potencialmente infectado se debe descontaminar, esterilizar en autoclave o incinerar en el laboratorio. Los recipientes para desechos contaminados, incluso los destinados a la eliminación de desechos de objetos punzocortantes, tienen que ser fáciles de reconocer y adecuados para la finalidad prevista.

Las reglas básicas de laboratorio se pueden resumir de la siguiente manera:

1. Mantenga despejadas las zonas de trabajo (por ejemplo, nunca coloque morrales o mochilas, carteras, libros, etc. en la mesa de laboratorio).
2. Lávese siempre las manos con agua y jabón al entrar y salir del laboratorio.
3. Use siempre su bata de laboratorio cuando esté en el laboratorio y quítesela cuando salga; las batas de laboratorio y la ropa personal no se deben guardar en el mismo armario.
4. Use siempre guantes cuando manipula sustancias biológicas o químicas potencialmente peligrosas.
5. Use anteojos de seguridad para protegerse contra las salpicaduras, los líquidos pulverizables y la radiación ultravioleta.
6. Use calzado adecuado (no sandalias).
7. Manipule las sustancias tóxicas (por ejemplo, el formol) en la cámara de seguridad biológica.
8. Rotule inequívocamente todas las preparaciones y las muestras que han de analizarse.
9. Elimine todos los desechos de manera apropiada y segura.
10. Limpie y desinfecte la zona de trabajo al comienzo y al final de cada sesión de laboratorio.
11. No saque del laboratorio el tablero sujetapapeles, las libretas, los bolígrafos ni los lápices usados porque pueden estar contaminados.
12. No almacene alimentos ni bebidas en el laboratorio.
13. No consuma alimentos ni bebidas en el laboratorio, ni se lleve las manos u otros objetos (por ejemplo, lápices, maquillaje, lentes de contacto) a la boca o los ojos.

Material de laboratorio básico en parasitología médica

- Microscopio, objetivos 4x, 10x, 40x y 100x
- Objetivos complementarios 20x y 60x
- Escala ocular y micrómetro de platina para calibrar el microscopio
- Centrifugadora (de ser posible con rotor para placas de microvaloración)

Equipo

- Balanza de laboratorio
- Placa calefactora con agitador magnético
- Refrigerador
- Microscopio estereoscópico (de ser posible)

Materiales

- Cinta adhesiva (transparente) y papel: 2 cm de ancho
- Vasos de precipitado (plásticos y de vidrio): 250 ml, 500 ml y 1000 ml
- Vasos cónicos
- Botellas (plásticas y de vidrio): 25 ml, 30 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml y 1000 ml con tapones o tapones cuentagotas y tapones de rosca
- Tubos de centrifugadora, cónicos, de tapa plana, graduados: 15 ml y 50 ml
- Tubos de centrifugadora, cónicos y plásticos desechables: 12 ml
- Probetas graduadas: 10 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml y 1000 ml
- Detergentes y desinfectantes
- Cubetas de tinción, frascos Coplin
- Frasco cuentagotas para solución salina, yodo, etc.
- Pinzas y tijeras
- Embudo (plástico y de vidrio)
- Gasa
- Placa calefactora
- Densímetro (peso específico 1,10–1,40)
- Aceite de inmersión de viscosidad baja

- Marcadores indelebles, bolígrafos, lápices
- Mortero y mano (porcelana de laboratorio)
- Guantes desechables (látex o nitrilo)
- Filtros de membrana (12 µm o 15 µm) y soporte de filtros
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Toallas de papel
- Pipetas Pasteur con peras de goma, pipeta electrónica
- Cajas de Petri (plástica y de vidrio)
- Pipetas (cuentagotas de plástico) desechables: capacidad total de la pipeta 7 ml
- Recipientes de plástico "exprimibles": 100 ml, 250 ml y 500 ml
- Varilla (plástica)
- Bandeja para portaobjetos (plástica)
- Agitadores
- Gradilla para tubos de centrifugadora
- Formularios de registro y papel
- Etiquetas autoadhesivas
- Tamiz metálico (colador de té), diámetro 7,5 cm
- Cronómetro
- Aplicadores de madera, torundas de algodón y bajalenguas

Reactivos

- Cromotropo 2R
- Ácido acético glacial
- Agua destilada
- Etanol: 70%, 95% y 100%
- Acetato de etilo
- Formaldehído (37–40%)
- Glicerol
- Ácido clorhídrico (HCl)

- Cristales de yodo (I2)
- Verde claro SF
- Verde de malaquita
- Yoduro de potasio (KI)
- Solución salina
- Acetato de sodio
- Azul de metileno

Soluciones

- Carbol-fucsina: licúe 5 g de cristales de fenol con una cantidad pequeña de agua destilada al baño maría a 95 °C. Disuelva 1 g de fucsina básica en el fenol licuado. Agregue 10 ml de etanol al 95% y mezcle. Agregue 100 ml de agua destilada. Filtre y almacene en un matraz oscuro, bien rotulado. La solución está lista para usar.
- Formol al 5%: 50 ml de formaldehído + 950 ml de agua destilada o solución salina (recomendado para un uso multifuncional y la conservación de los quistes de protozoos).
- Formol al 10%: 100 ml de formaldehído + 900 ml de agua destilada o solución salina (recomendado para huevos y larvas de helmintos).

- Solución de Lugol: 2 g de yoduro de potasio (KI) + 1,5 g de cristales de yodo en polvo (agregue cuando se haya disuelto el KI) + 100 ml de agua destilada. Almacene en una botella ámbar con tapón de cristal a temperatura ambiente y en un lugar oscuro; la fecha de caducidad es un año. La solución está lista para usar. Para uso corriente, disponer 20 ml en un frasco cuentagotas ámbar por 10 a 14 días.
- SAF (preparación fijadora de acetato sódico-ácido acético-formol: 1,5 g de acetato de sodio + 2,0 ml de ácido acético glacial + 4 ml de formol + 92,0 ml de agua destilada).

Soluciones de flotación

Cloruro de sodio saturado (NaCl), peso específico 1,20: 1000 ml de agua caliente + 500 g de NaCl, deje disolver durante la noche con agitador magnético. Compruebe el peso específico con un densímetro.

Cloruro de sodio saturado (NaCl), pe 1,20

Anquilostomas *Hymenolepis* spp.
Ascaris lumbricoides *Taenia* spp.
(*Trichuris* spp.)
Trichostrongylus spp.
Strongyloides stercoralis
Enterobius vermicularis

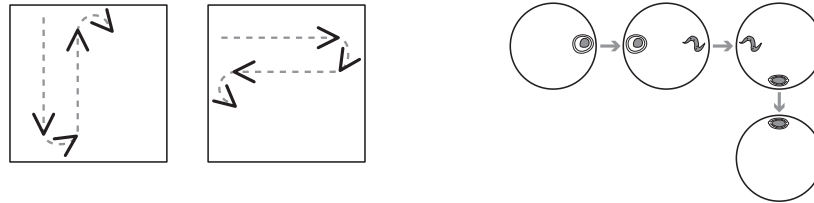
Sulfato de zinc (ZnSO₄ 7H₂O), peso específico 1,35: 685 ml de agua + 685 g de sulfato de zinc, deje disolver durante la noche con agitador magnético. Compruebe el peso específico con un densímetro.

Sulfato de zinc (ZnSO₄ 7H₂O), pe 1,35

Ascaris lumbricoides *Dientamoeba fragilis*
Trichuris spp. *Blastocystis hominis*
Fasciola hepatica *Entamoeba* spp.
Schistosoma mansoni *Endolimax nana*
Dicrocoelium dendriticum *Giardia duodenalis*
Balantidium coli *Enteromonas hominis*

Examen microscópico

La búsqueda de huevos y larvas de helmintos (y de ciliados) se realiza de forma clásica con un objetivo 10x. Se examina toda la preparación. Para lograrlo se debe trabajar de manera sistemática. Comience siempre en una esquina del cubreobjetos y trabaje en línea recta desde la esquina escogida hacia el lado opuesto. Una vez allí, desplácese lateralmente una columna y repita hasta haber examinado toda la preparación. Al observar el campo microscópico siguiente, proceda siempre con una ligera superposición: cuando se ha examinado un campo, escoja un objeto en este campo y desplácelo hacia el lado opuesto del campo. Entonces, se examina este segundo campo. Cuando se encuentran estructuras parasitarias, los detalles se analizan con un objetivo 40x.



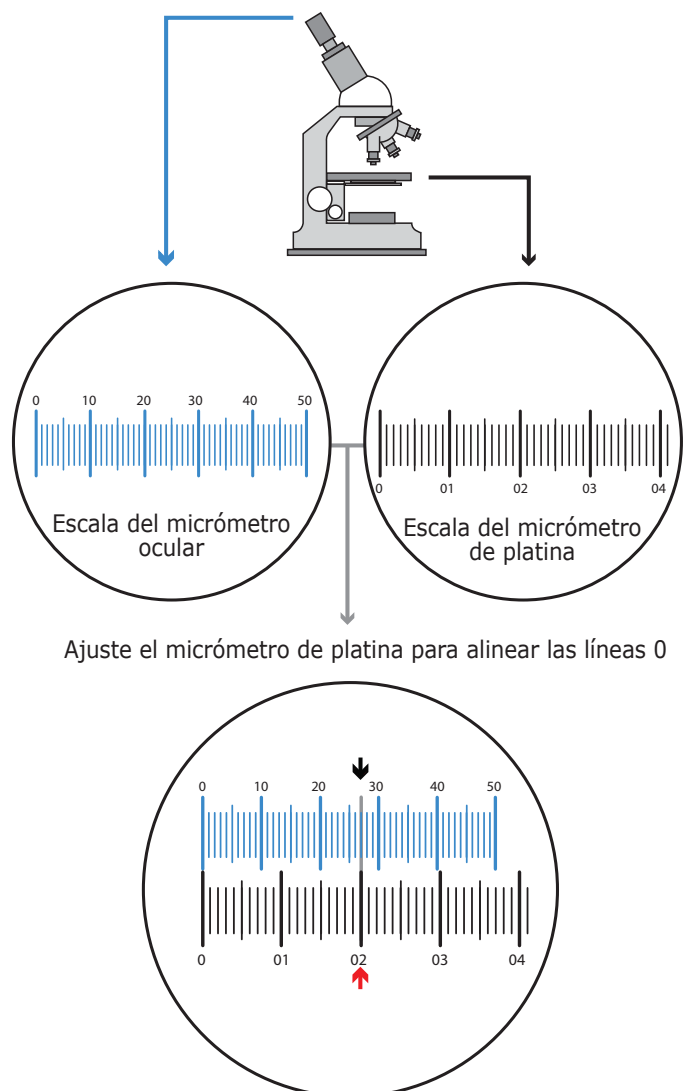
La búsqueda de la mayoría de los protozoos se realiza con el objetivo 40x. De la misma manera descrita arriba, se deben examinar unas pocas columnas (3 ó 4) con cierto solapamiento. Para la identificación morfológica se utiliza aceite de inmersión con el frotis en solución de Lugol. Para diferenciar las especies se deben medir los trofozoítos, los quistes o ambos.

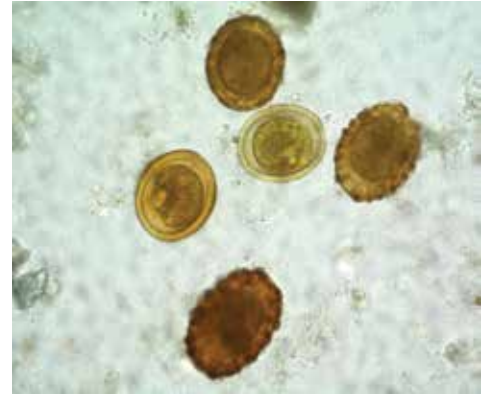
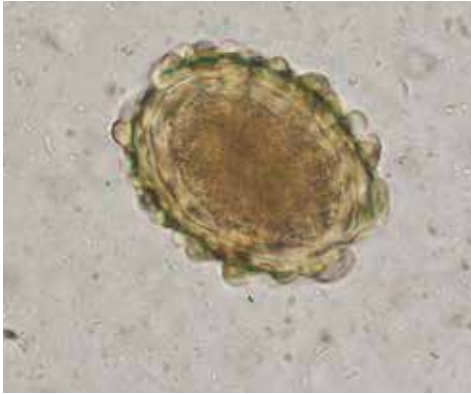
Calibración del micrómetro ocular

A fin de medir las estructuras presentes en el campo microscópico, se debe disponer de una escala de medición apropiada en el ocular del microscopio. Antes de usar la escala, es necesario calibrarla.

Instrucciones

1. Retire el ocular (10x u otro) del microscopio y coloque la escala sobre el diafragma situado dentro del ocular. Atornille de nuevo la lente y reinserte el ocular en el microscopio.
2. Coloque el micrómetro de platina sobre la platina del microscopio y enfoque el objetivo en algún segmento de la escala.
3. Ajuste el micrómetro de platina desplazándolo de manera que la línea 0 del micrómetro ocular quede exactamente sobre la línea 0 del micrómetro de platina.
4. Sin mover el micrómetro de platina, encuentre otro punto en el extremo derecho donde coincidan con exactitud otras dos líneas. Este segundo par de líneas superpuestas debe estar lo más alejado posible hacia la derecha de la línea 0.
5. Cuente en el micrómetro ocular el número de divisiones entre la línea 0 y el punto donde se superpone el segundo par de líneas. En el ejemplo de la figura adjunta, este número, indicado por la flecha negra, equivale a 27 unidades del ocular.
6. Cuente luego en el micrómetro de platina el número de líneas divisorias de 0,1 mm entre la línea 0 y el segundo par de líneas superpuestas; en la figura, este número indicado por la flecha roja, equivale a 0,2 mm.
7. A fin de calcular la longitud representada por una unidad del ocular: $1 \text{ unidad del ocular} = (0,2 \text{ mm} / 27) \times 1000 = 7,4 \mu\text{m}$.
8. Por lo tanto, $1 \text{ unidad del ocular} = 7,4 \mu\text{m}$ para este objetivo específico. Cada objetivo del microscopio se debe calibrar por separado.
9. Cuando se hayan calibrado todos los objetivos, prepare un gráfico sencillo que indique el factor de calibración que corresponde a cada uno de ellos.

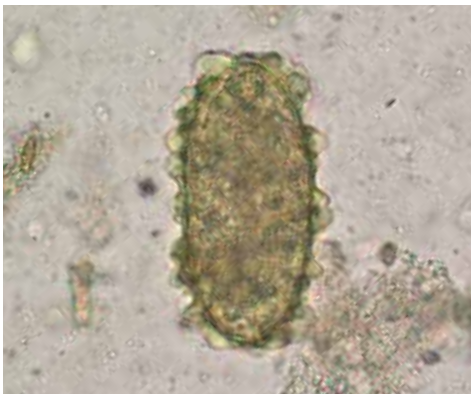




Ascaris lumbricoides Huevo fértil (izquierda) como se observa en las heces frescas; huevo infectante (derecha), que contiene una larva después de un período de 2-4 semanas de desarrollo del embrión. Forma redondeada, de color amarillo a pardo con una cubierta gruesa y una capa mamelonada. Tamaño: 45-75 x 35-40 µm



A. lumbricoides Huevos fértiles con o sin capa mamelonada (huevos "decorticados"). Nótese el color más claro de los huevos decorticados



A. lumbricoides Los huevos infértiles son alargados y de mayor tamaño que los huevos fértiles, su cubierta es más delgada y el tamaño de la capa mamelonada es más variable (izquierda). El contenido del huevo consiste en un material desorganizado, compuesto por una masa amorfa de gránulos refringentes. En ocasiones estos huevos pueden estar decorticados (derecha). Tamaño: 85-95 x 38-45 µm

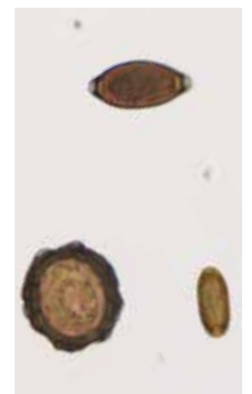
A. lumbricoides Larva infectante salida de un huevo roto



Trichuris trichiura - tricocéfalo Los huevos tienen forma de limón, color amarillo a pardo, cubierta lisa y prominencias bipolares características (tapones). A la derecha, se puede ver un huevo infectante que contiene una larva. Tamaño: 50-55 x 20-25 µm



T. trichiura Huevo de forma atípica



Capillaria spp. Nótese la forma asimétrica del huevo

C. philippinensis Los huevos tienen forma de limón, color amarillento, una cubierta estriada y dos tapones polares mal definidos. Tamaño: 35-45 x 20-25 µm



C. aerophila Los huevos son grisáceos, en forma de limón con cubierta delgada y tapones bipolares mal definidos. Tamaño: 59-80 x 30-40 µm



Huevos de **Ascaris** (izquierda), **Trichuris** (arriba) y **Capillaria** (derecha)

Concentración (sedimentación y flotación)

Estos métodos permiten la detección de elementos parasitarios (huevos, larvas, ooquistes y quistes) que pueden pasarse por alto cuando solo se examina el frotis en preparación directa húmeda.

Concentración por sedimentación con formol-acetato de etilo

Este método facilita la recuperación de todos los quistes y los ooquistes de los protozoarios, los huevos y las larvas de helmintos presentes en la muestra de heces; se recomienda esta técnica por ser la más fácil de realizar y la menos propensa a errores técnicos, que permite recuperar la gama más amplia de elementos parasitarios. La muestra de heces puede estar fresca o fijada. La preparación contendrá a menudo más residuos que los que se obtienen con la flotación y otros métodos.

Nota: No se recomienda esta técnica para los huevos de *Fasciola spp.* ni las larvas de *Strongyloides stercoralis*.

Método

1. Mezcle alrededor de 1 g de heces (tamaño de una avellana) con 10 ml de fijador (SAF o formol al 5%–10%) y deje reposar al menos durante 30 minutos.
2. Vierta la suspensión en un tubo cónico de 15 ml a través de un tamiz o de una capa doble de gasa dispuesta en embudo pequeño y centrifugue a 500 g durante 10 minutos.
3. Retire el sobrenadante y desagregue el sedimento con un palillo de madera.
4. Agregue 7 ml de solución salina al sedimento, cierre el tubo con un tapón y mezcle.
5. Agregue 3 ml de acetato de etilo (gasolina o éter). Precaución: estos reactivos se deben manejar con especial cuidado pues son muy volátiles y pueden estallar, cierre el tubo con un tapón de caucho (compruebe que esté cerrado herméticamente) y agite vigorosamente durante 30 segundos.
6. Espere 15–30 segundos y retire el tapón con cuidado.
7. Centrifugue a 500 g durante 3 minutos.
8. El contenido en el tubo se separará en cuatro capas, que comenzando del fondo consisten en: el sedimento (contiene los elementos parasitarios), la solución salina, el tapón de residuos fecales y la capa superior de acetato de etilo (éter o gasolina).
9. Despegue el tapón de residuos de la pared del tubo con la ayuda de un aplicador. Vierta las tres capas superiores invirtiendo el tubo con un movimiento enérgico.
10. Mezcle el sedimento con el líquido restante (de ser necesario, agregue unas pocas gotas de solución salina).
11. Deposite una gota del sedimento en un portaobjetos y cúbrala con un cubreobjetos. Se puede agregar una preparación teñida con solución de Lugol en el mismo portaobjetos.
12. Examine en el microscopio.



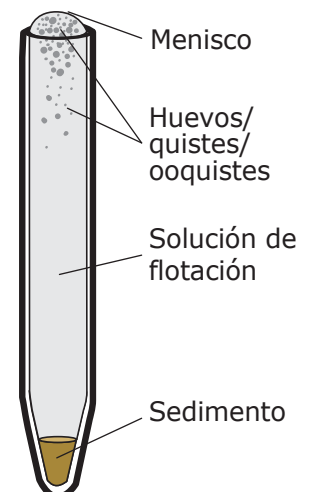
Concentración por flotación

La técnica de flotación permite separar los elementos parasitarios y los residuos orgánicos más gruesos, con una solución de flotación de peso específico alto. Los huevos, los quistes y los ooquistes con un peso específico inferior a la solución de flotación, ascenderán a la parte superior de la suspensión. La muestra de heces puede estar fresca o fijada. Las soluciones de flotación que más se utilizan son la solución de sulfato de cinc y el cloruro de sodio (véase la lámina de introducción 3).

Nota: Con esta técnica la concentración de los huevos pesados como los de *Fasciola* o los huevos infértiles de *Ascaris* no es eficiente. Además, los huevos y los quistes tienden a perder su forma característica después de 40–60 minutos.

Método

1. Agregue alrededor de 3 g de heces a 10 ml de formol 5%–10 %, mezcle bien y deje reposar al menos durante 30 minutos.
2. Filtre la suspensión a través de un tamiz o una capa de gasa doble, y viértala en un tubo de ensayo cónico hasta cerca de 1 cm por debajo del borde.
3. Centrifugue durante 3 minutos a 1500 g y elimine el sobrenadante.
4. Suspendede de nuevo el sedimento en solución salina con una pipeta y repita luego el paso 3.
5. Suspendede de nuevo el sedimento en 10 ml de solución de flotación con una pipeta y centrifugue durante 5 minutos a 800–1000 g.
6. Retire el tubo de la centrifugadora y agregue unas pocas gotas de solución de flotación hasta que se forme un menisco.
7. Después de unos 10 minutos, recupere la parte superior del menisco, colocando una lámina cubreobjetos sobre el mismo, luego colóquela hacia abajo sobre un portaobjetos y examine en el microscopio.



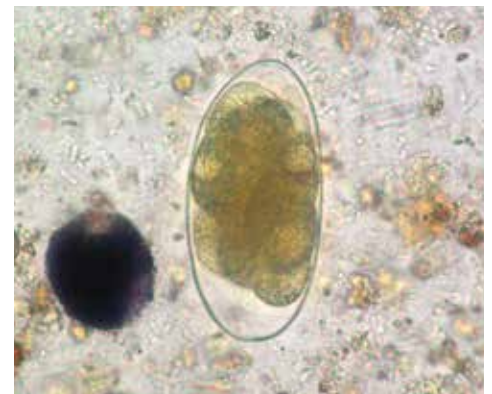
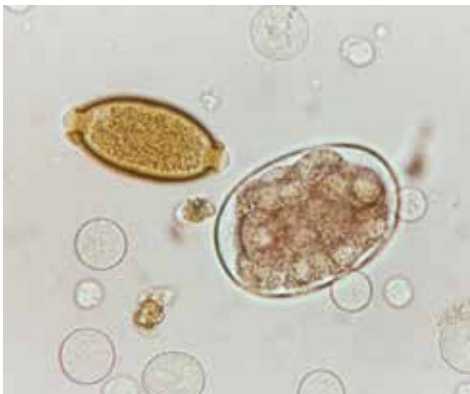
Nota: Se pueden agregar unas pocas gotas de Lugol al portaobjetos con el fin de acen-
tuar los detalles morfológicos de los parásitos, por ejemplo, de los quistes de *Giardia*.



Ancylostomatidae (*Ancylostoma braziliense*, *A. caninum*, *A. duodenale*, *Necator americanus*) Los huevos no se pueden diferenciar al microscopio. Son ovoideos, amarillo-grisáceos y tienen una cubierta delgada. En las heces frescas contienen una mórula de 4 a 6 células. Si se dejan a temperatura ambiente unas pocas horas, el número de células aumentará (derecha). Tamaño: 60-75 x 35-40 µm



A. duodenale y *N. americanus* Cápsulas bucales de parásitos adultos. Nótese la diferencia entre los dientes afilados de *A. duodenale* y las placas cortantes semilunares de *N. americanus*. Fijados en formol y aclarados con alcohol al 70% y glicerina



Trichostrongylus (izquierda) y **Ancylostomatidae** (derecha) Huevos en el mismo campo microscópico. Obsérvese la diferencia de tamaño

Trichostrongylus spp. (*T. orientalis*, *T. colubriformis*, *T. axei*) Los huevos son de forma ovoide, con un extremo en punta, de color amarillo-grisáceo, pared delgada, muy semejantes a los huevos de uncinaria pero un poco más grandes. La mórula del interior puede constar de un número variable de blastómeros. Tamaño: 75-95 x 40-50 µm

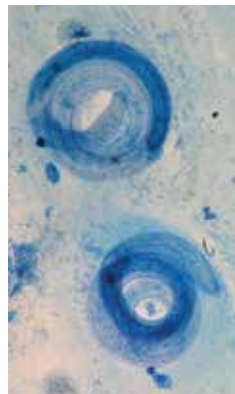


Strongyloides stercoralis Los huevos son de forma ovoide, color grisáceo, pared delgada y ya albergan una larva cuando pasan a las heces, donde pueden verse ocasionalmente. Tamaños: 50-58 x 30-34 µm



S. stercoralis Larva rhabditiforme (L1) teñida con Lugol. Nótese el primordio genital (flecha, a la izquierda). Primer plano del extremo cefálico (a la derecha), nótese el esófago rhabditoide y un vestíbulo bucal corto. Tamaño: 180-380 x 14-20 µm

S. stercoralis Detalle del extremo caudal afilado de una larva rhabditiforme (L1), (a la izquierda, Lugol) y una larva filariforme (L3) con una muesca en el extremo caudal (a la derecha, sin tinción)



S. stercoralis Larvas rhabditiformes (L1) después de la sedimentación de Baermann (a la izquierda, sin tinción) y larvas filariformes (L3) en muestra de esputo (a la derecha, tinción de Ziehl Neelsen)

Enterobius vermicularis - u oxiuro Los huevos son de forma oval, asimétricos y suelen contener una larva. A la derecha, los huevos se recogieron con la técnica de la cinta adhesiva. Tamaño: 50-60 µm por 20-30 µm



E. vermicularis Hembra adulta; nótese las expansiones cefálicas y la cola en punta afilada. Las hembras que se adhieren al ano están llenas de huevos. El tamaño de la hembra es 8-13 mm por 0,3-0,5 mm; el tamaño del macho es 2,5 x 0,1-0,2 mm

Concentración (flotación)

Técnica de McMaster

La técnica de McMaster se usa para identificar y cuantificar los elementos parasitarios por gramo de heces: huevos por gramo (hpg), ooquistes por gramo (opg), quistes por gramo (qpg) y larvas por gramo (lpg). La muestra de heces puede estar fresca o fijada. Esta prueba emplea un portaobjetos especial con una rejilla, que facilita el recuento.

Método con centrifugación de la muestra

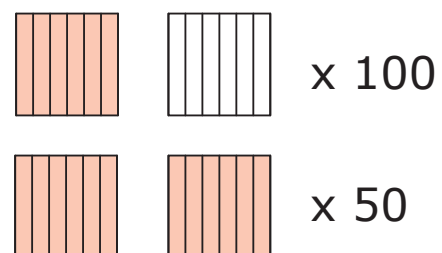
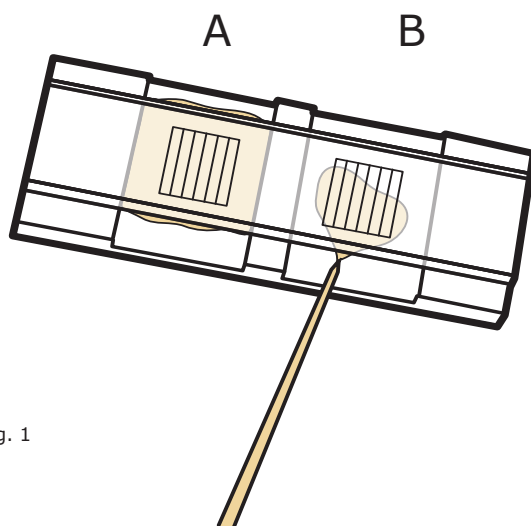
1. Homogenice la muestra de heces.
2. Pese 2 g de heces en un vaso de precipitado sobre una balanza y dilúyalo en 28 ml de agua del grifo.
3. Filtre la suspensión en un colador de té o una capa doble de gasa.
4. Mezcle la suspensión vertiéndola de un vaso de precipitado a otro, diez veces, y llene un tubo de ensayo de 15 ml hasta algunos centímetros debajo del borde.
5. Centrifugue a 1500 g durante 3 minutos.
6. Descarte el sobrenadante y llene el tubo hasta el nivel anterior con solución de flotación (véase la lámina de introducción 3).
7. Mezcle bien la suspensión con una pipeta y llene la primera cámara ("A") del portaobjetos McMaster. No deje nada de líquido en la pipeta, pues los huevos ascienden rápidamente en el líquido de flotación.
8. Repita el paso 7 y llene la segunda cámara ("B").
9. Espere 2 minutos.
10. Examine una cámara en el microscopio y multiplique por 100 el número de elementos parasitarios presentes en una zona delineada. Otra opción consiste en examinar ambas cámaras y multiplicar por 50 a fin de obtener el número de elementos parasitarios por gramo de heces: hpg, opg, qpg, lpg.

Cuando no se cuenta con una centrifugadora, el procedimiento se puede llevar a cabo sin centrifugación, pero el examen del portaobjetos puede ser más difícil debido a la mayor presencia de residuos.

Método sin centrifugación de la muestra

1. Homogenice la muestra de heces.
2. Pese 2 g de heces y dilúyalo en 28 ml de solución de flotación (véase la lámina de introducción 3).
3. Filtre la suspensión en un tamiz, tres veces.
4. Mezcle la suspensión vertiéndola de un vaso de precipitados a otro, diez veces.
5. Llene la primera cámara del portaobjetos McMaster con una pipeta. No deje nada de líquido en la pipeta, pues los huevos ascienden rápidamente en el líquido de flotación.
6. Repita el paso 4 y llene la segunda cámara.
7. Espere 2 minutos.
8. Examine una cámara en el microscopio y multiplique por 100 el número de elementos parasitarios presentes en una zona delineada. Otra opción consiste en examinar ambas cámaras y multiplicar por 50 a fin de obtener el número de elementos parasitarios por gramo de heces: hpg, opg, qpg, lpg.

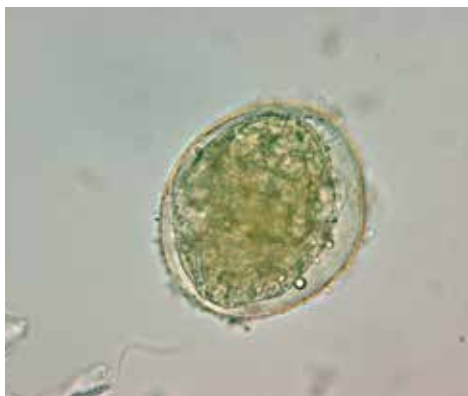
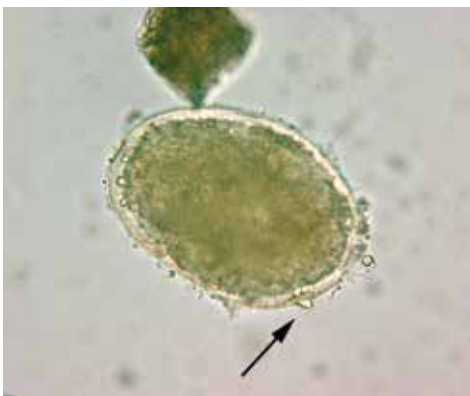
Nota: Al final del procedimiento, coloque la cámara en agua con jabón con desinfectante y luego limpie, enjuague y seque.





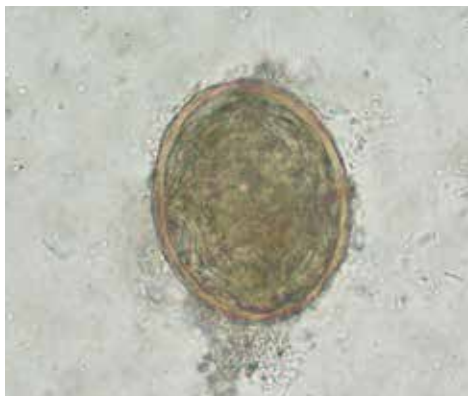
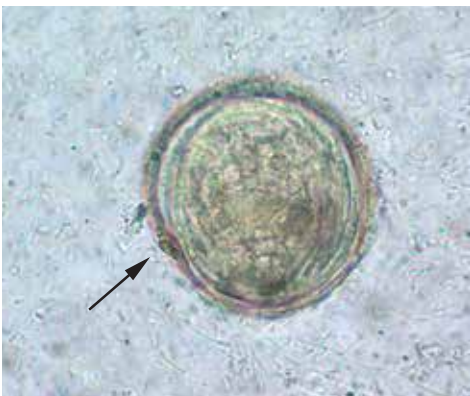
Schistosoma mansoni Los huevos son alargados, de forma oval con una espícula lateral característica que puede verse o no, según la posición del huevo. Un extremo polar es afilado y ligeramente curvo. Los huevos son de color amarillo grisáceo, la pared es delgada y contienen un miracidio. A la derecha, huevo calcificado. Tamaño: 114-180 x 45-70 μm

S. mansoni (en el centro) y **Ancylostomatidae** (arriba y abajo). Obsérvense el tamaño diferente de los huevos en el mismo campo microscópico. Tinción de Lugol



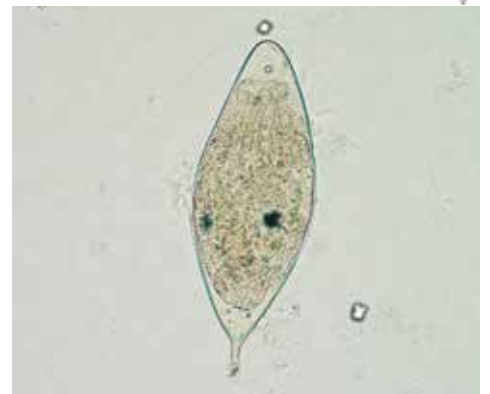
S. japonicum Los huevos son de forma redondeada, semejantes a los huevos de *S. mansoni* pero más pequeños. Presentan una espícula lateral discreta (flecha). Los huevos son de color gris amarillento, la pared es delgada y contienen un miracidio. A menudo, la orientación del huevo puede ocultar la espícula (a la derecha). Tamaño: 70-100 x 55-64 μm

S. japonicum Los huevos son de forma alargada. La espícula con frecuencia está oculta



S. mekongi Los huevos son de forma casi esférica, semejantes a los huevos de *S. japonicum* pero más pequeños. Presentan una espícula lateral discreta (flecha, a la izquierda) que no suele ser visible (a la derecha). Los huevos son de color gris amarillento, su pared es más gruesa que la pared de los huevos de otros esquistosomas. Contienen un miracidio. Tamaño: 50-80 x 40-65 μm

S. intercalatum Los huevos tienen forma romboidal a veces con una protuberancia ecuatorial. Tienen una espina terminal prominente, tienen paredes delgadas y contienen un miracidio. Tamaño: 104-203 μm



S. mansoni Adultos, la hembra delgada se aloja en el canal ginecóforo del macho, que es más grueso. Los adultos residen en los plexos venosos

S. mansoni Adultos, el macho es grueso y la hembra más delgada

S. haematobium Los huevos se encuentran generalmente en la orina, pero en ocasiones también se observan en las heces. Tamaño: 110-170 μm

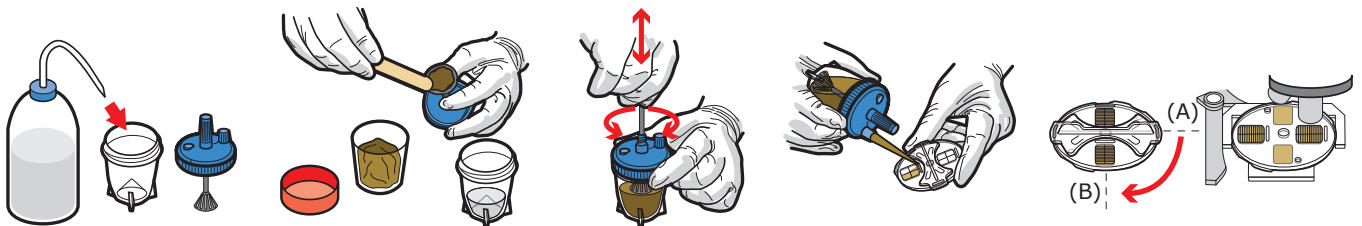
Concentración (flotación)

Técnicas Mini-FLOTAC

El Mini-FLOTAC es una evolución lógica del FLOTAC, que se desarrolló con el fin de obtener un diagnóstico multivalente muy exacto, cualitativo y cuantitativo, de los elementos parasitarios (huevos, larvas, ooquistes y quistes) en muestras fecales; esta técnica es especialmente adecuada en los entornos con recursos limitados. El Fill-FLOTAC, por el contrario, es un sistema cerrado diseñado con el fin de facilitar la eficacia de los primeros cuatro pasos consecutivos de las técnicas Mini-FLOTAC: obtención y pesado de la muestra, homogeneización, filtración de las muestras fecales y llenado de las cámaras Mini-FLOTAC (www.parassitologia.unina.it/flotac/).

Método para muestras de heces frescas

1. Agregue 38 ml de solución de flotación (véase la lámina de introducción 3) (razón de dilución 1:20) al recipiente Fill-FLOTAC (el Fill-FLOTAC tiene una escala graduada).
2. Homogenice con cuidado la muestra fecal, mezclándola con una espátula de madera, y llene luego el colector cónico del Fill-FLOTAC (2 g de heces).
3. Cierre el Fill-FLOTAC y homogenice la suspensión fecal, bombeando el colector cónico hacia arriba y abajo en el recipiente (10 veces), girando al mismo tiempo hacia la derecha y la izquierda.
4. Coloque la punta en el orificio lateral del Fill-FLOTAC. Invierta el Fill-FLOTAC cinco veces a fin de mezclar la muestra y llene las cámaras de flotación del Mini-FLOTAC.
5. Después de 10 minutos, use la llave para girar el disco de lectura en el sentido de las agujas del reloj (cerca de 90°) hasta que el disco se detenga, con el fin de separar los elementos parasitarios flotantes de los residuos fecales. Retire la llave y examine el Mini-FLOTAC en el microscopio. El factor de multiplicación que se utiliza para obtener el número de huevos, larvas, ooquistes y quistes por gramo de heces es 10.



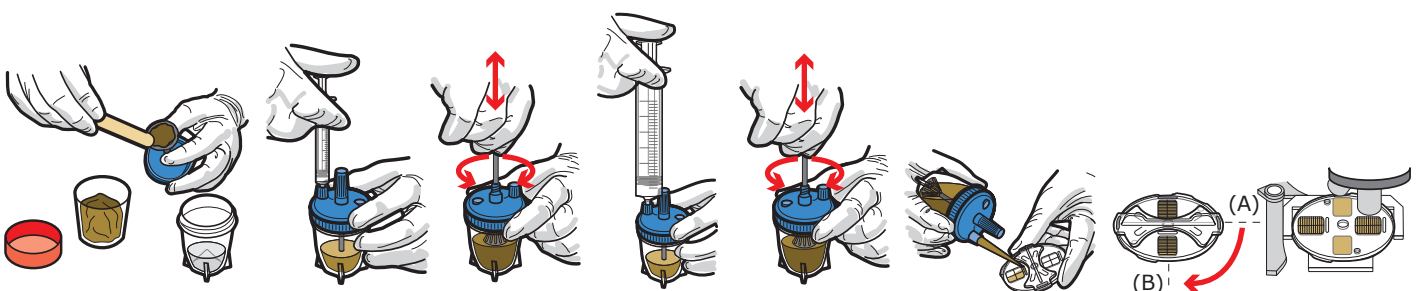
Sensibilidad analítica y factor de multiplicación =

10 HPG, LPG, OPG, QPG



Método para muestras de heces fijadas

1. Homogenice con cuidado la muestra fecal, mezclándola con una espátula de madera, y llene luego el colector cónico del Fill-FLOTAC (2 g de heces).
2. Con el fin de fijar la muestra, agregue 2 ml de formol al 5% al recipiente Fill-FLOTAC.
3. Homogenice la suspensión fecal en el fijador, bombeando el colector cónico hacia arriba y abajo en el recipiente (10 veces), girando al mismo tiempo hacia la derecha y la izquierda. Para lograr un análisis muy exacto se pueden almacenar las muestras a temperatura ambiente en formol al 5% durante 21 días.
4. A fin de facilitar el análisis de la muestra, agregue hasta 40 ml de solución de flotación (véase la lámina de introducción 3) (razón de dilución 1:20) al recipiente Fill-FLOTAC (el Fill-FLOTAC tiene una escala graduada).
5. Homogenice la suspensión fecal bombeando el colector cónico hacia arriba y abajo en el recipiente (10 veces), girando al mismo tiempo hacia la derecha y la izquierda.
6. Coloque la punta en el orificio lateral del Fill-FLOTAC. Invierta el Fill-FLOTAC cinco veces a fin de mezclar la muestra y llene las dos cámaras de flotación del Mini-FLOTAC.
7. Después de 10 minutos, use la llave para girar el disco de lectura en el sentido de las agujas del reloj (cerca de 90°) hasta que el disco se detenga, con el fin de separar los elementos parasitarios flotantes de los residuos fecales. Retire la llave y examine el Mini-FLOTAC en el microscopio. El factor de multiplicación que se utiliza para obtener el número de huevos, larvas, ooquistes y quistes por gramo de heces es 10.



Sensibilidad analítica y factor de multiplicación =

10 HPG, LPG, OPG, QPG





Clonorchis sinensis Los huevos son operculados y contienen un miracidio. En el extremo opuesto al opérculo, en ocasiones se observa una protuberancia pequeña. Los huevos de *Opisthorchis* y *Metagonimus* son muy similares a los huevos de *C. sinensis*. Tamaño: 27-35 x 11-20 μ m



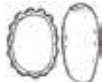
Opisthorchis spp. Los huevos son operculados y contienen un miracidio. En el extremo opuesto al opérculo, en ocasiones se observa una protuberancia pequeña. Los huevos de *Clonorchis* y *Metagonimus* son muy similares a los huevos de *Opisthorchis*. Tamaño: 26-30 x 11-15 μ m



Metagonimus yokogawai Los huevos son operculados y contienen un miracidio. En el extremo del opérculo, en ocasiones se observa una protuberancia pequeña. Los huevos de *Clonorchis* y *Opisthorchis* son muy similares a los huevos de *M. yokogawai*. Tamaño: 26-30 x 15-20 μ m



Paragonimus westermani Los huevos son asimétricos en ocasiones, con un opérculo prominente. Los huevos que se pueden encontrar en el esputo y, en ocasiones, en las heces no tienen embrión. Tamaño: 80-120 x 45-70 μ m



Paragonimus uterobilateralis Los huevos son de forma oval, generalmente más pequeños y con un opérculo menos prominente que el de los huevos de *P. westermani*. Tamaño: 50-95 x 35-55 μ m



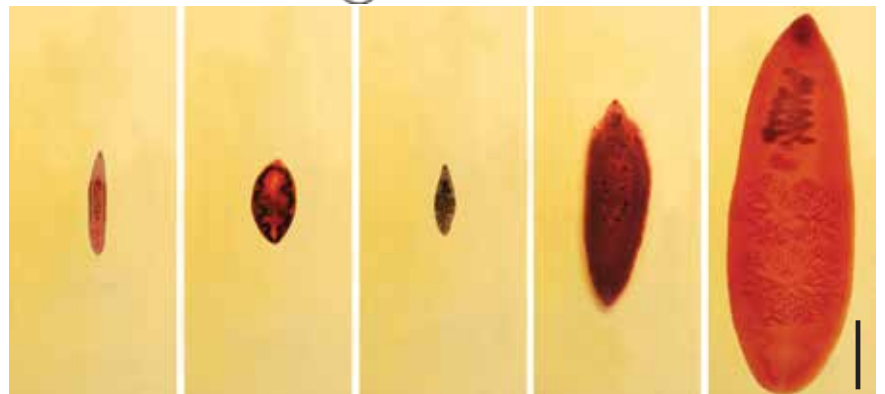
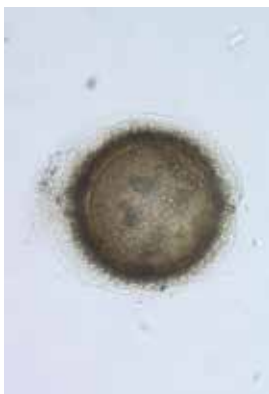
Dicrocoelium dendriticum Los huevos son de forma oval, asimétricos, de color pardo oscuro, pared gruesa, operculados y contienen un miracidio. Tamaño: 35-45 x 20-30 μ m



Fasciola hepatica Los huevos son de forma elipsoidal, color amarillento y pared delgada. Con frecuencia no se percibe el opérculo. Los huevos no tienen embrión cuando pasan a las heces y no se pueden diferenciar fácilmente de los huevos de *Fasciolopsis buski*, *F. gigantica*, *Echinostoma* spp. ni *Gastrodiscoides hominis*. Tamaño: 130-145 x 70-90 μ m



F. hepatica Después de la flotación con solución de sulfato de zinc el huevo se comprime y es difícil de reconocer



F. hepatica Cercaria (a la izquierda) presente en medio acuático y en etapa metacercaria infectante (a la derecha), enquistada en la vegetación del agua

De izquierda a derecha: adultos de **C. sinensis**, **P. westermani**, **D. dendriticum**, **F. hepatica** y **F. buski**. Barra = 1 cm

Concentración (sedimentación)

Técnica de Baermann

Esta técnica permite concentrar y detectar las larvas de *Strongyloides* spp. y los trofozoítos de *Balantidium* spp. en las heces. El aparato de Baermann consiste en un embudo de vidrio (14 cm de diámetro) dotado de un tubo blando de goma de 10 cm, cerrado en un extremo con una pinza.

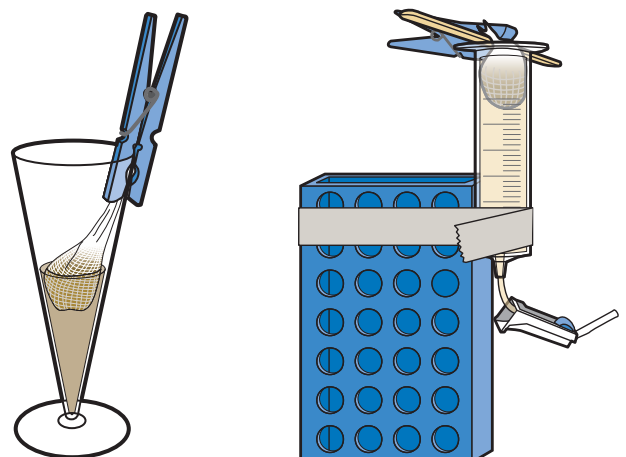
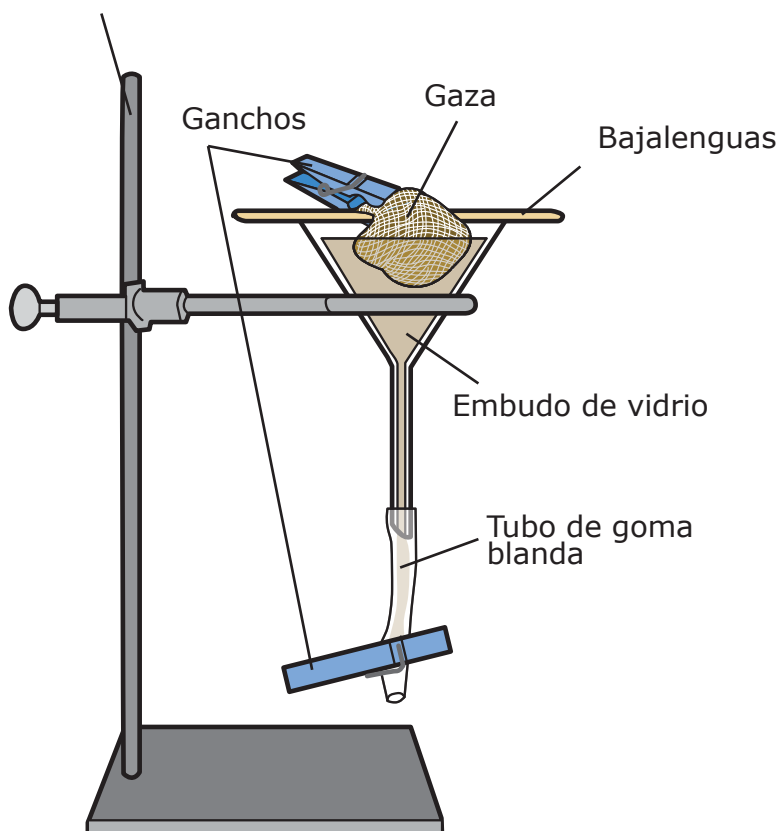
Nota: Solo se pueden procesar las muestras fecales frescas sin fijación ni refrigeradas. Use siempre guantes durante todos los procedimientos.

Método

1. Homogenice la muestra de heces; si las heces son muy duras, agregue unos mililitros de solución salina.
2. Recoja cerca de 10 g de heces (tamaño de un albaricoque o damasco) y colóquelos entre dos capas de gasa. En el caso de heces diarreicas, coloque sobre la gasa un disco de papel de filtro de velocidad de flujo intermedio. Asegúrese de que la gasa permanezca suspendida dentro el embudo con un palillo como un bajalenguas o colocándola en el colador de té de acero.
3. Llene el embudo casi hasta el borde con agua tibia o solución salina.
4. Puede colocar una fuente de luz bajo el aparato de Baermann con el fin de acentuar la migración de larvas.
5. Después de 2-3 horas, abra la pinza del extremo del tubo y transfiera alrededor de 10 ml del sedimento a un tubo cónico.
6. Centrifugue el tubo a 500 g durante 10 minutos.*
7. Elimine el sobrenadante.
8. Transfiera unas pocas gotas del sedimento sobre un portaobjetos con una pipeta.
9. Antes de examinar el portaobjetos en el microscopio, se puede añadir una gota de solución yodada de Lugol para teñir e inmovilizar las larvas
10. Examine en el microscopio con el objetivo 10x.

* Si no se cuenta con una centrifugadora, se puede transferir directamente una cantidad pequeña de sedimento sobre un portaobjetos; si se quiere, con una gota de solución yodada de Lugol.

Soporte del embudo



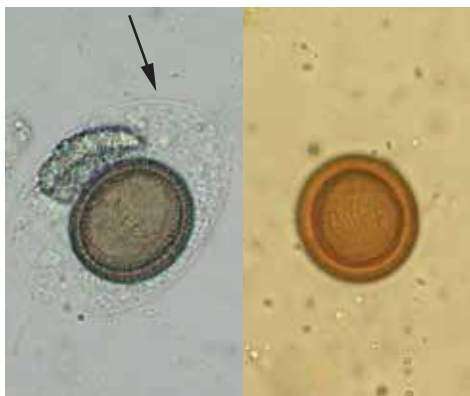
Dos posibilidades para el aparato de Baermann. En la imagen de la izquierda, se usa un vaso de sedimentación plástico; en este caso las larvas se recuperan del fondo con una pipeta larga. En la imagen de la derecha, se utiliza una jeringa de 50 ml y un tubo de venoclisis.



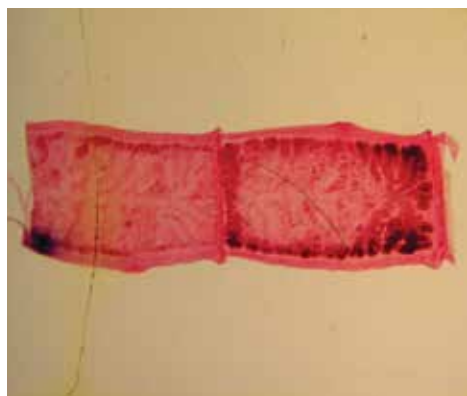
Diphyllobothrium latum Los huevos son operculados (punta de flecha), nunca tienen embrión cuando pasan a las heces. En ocasiones se observa una protuberancia pequeña en el extremo opuesto al opérculo (flecha). Tamaño: 67-71 x 40-51 µm



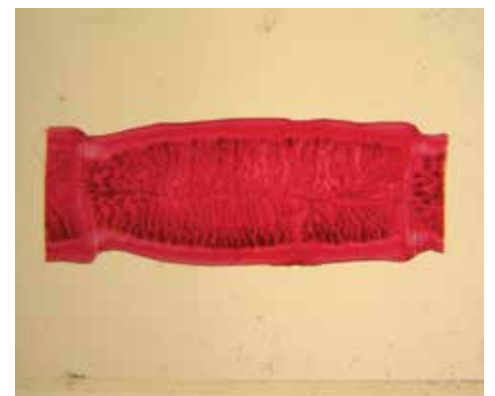
Diphyllobothrium spp. Los adultos son de color marfil y miden hasta 10 m de largo y 1,5 cm de ancho. Los proglótidos grávidos maduros son más anchos que largos y presentan un útero característico en forma de roseta, visible en el centro de cada proglótide. Los huevos abandonan la proglótide madura a través del poro genital y se pueden ver en el examen microscópico de las heces. Sin tinción



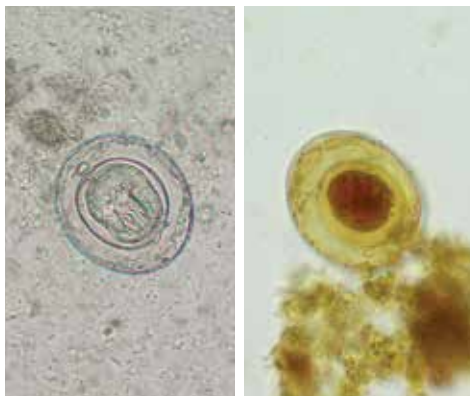
Taenia spp. Los huevos tienen una cubierta radiada muy gruesa (embrióforo), a veces rodeada por vitelo (flecha). Se pueden observar tres pares de ganchos dentro de la larva (oncosfera). Los huevos de las diferentes especies de tenias no se pueden diferenciar. Tamaño: 30-35 µm



T. solium Proglótides teñidas. Los adultos son de color marfil, miden hasta 2-7 m largo. Proglótides teñidas maduras son más largas que anchas y se caracterizan por 7-13 ramas uterinas unilaterales. Las proglótides maduras pasan a las heces. Tinción con carmín



T. saginata Proglótide teñida. Los adultos son de color marfil y miden hasta 5 m de largo. Las proglótides maduras son más largas que anchas y se caracterizan por 14-32 ramas uterinas unilaterales. Las proglótides maduras salen activamente de su hospedero. Tinción con carmín



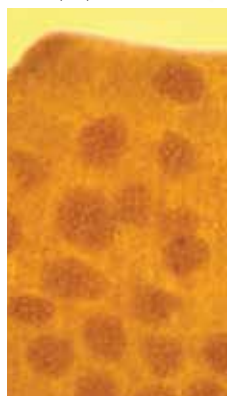
Hymenolepis nana Los huevos son de forma esférica a oval, de color gris, con una membrana externa delgada. A la izquierda: preparación sin tinción; en el centro: preparación de Lugol. En ocasiones se pueden observar dos espesamientos polares en la membrana interna. Se pueden ver tres pares de ganchos dentro de la oncosfera. Tamaño: 30-50 µm. Helminto adulto con escólex armado (a la derecha). Tamaño: 1,5-4,4 cm



Hymenolepis diminuta Los huevos son de forma esférica a oval, de color gris amarillento, con una membrana externa de color más oscuro y, a veces, estriada. Se pueden observar tres pares de ganchos dentro de la oncosfera. A la izquierda: Huevo en preparación de Lugol; a la derecha: extremo cefálico del adulto. Tamaño de los huevos: 70-85 x 60-80 µm. Tamaño de los adultos: 20-60 cm



Dipyliidium caninum Tres proglótidos sin tinción. Las adultas son de color marfil, miden hasta 50 cm de largo con proglótidos característicos que semejan granos de arroz



D. caninum Detalles de una proglótide madura (a la izquierda) donde pueden verse las cápsulas ovíferas (centro) que contienen oncosferas con ganchos (derecha). Tamaño del huevo que contiene el embrión hexacanto: 25-50 µm



Cultivo de nematodos en etapa larvaria

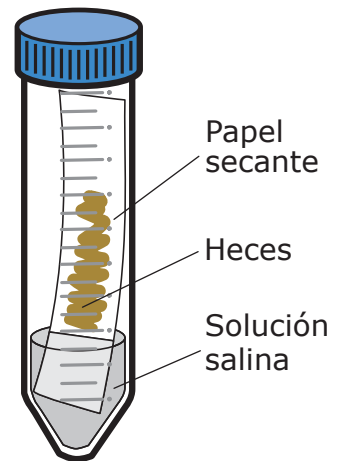
Cultivo de Harada Mori en tiras de papel de filtro

Estas técnicas se usan para identificar las infecciones por anquilostomas, *S. stercoralis* y *Trichostrongylus* spp.

Nota: Solo se pueden procesar las muestras fecales frescas sin fijación ni refrigeradas.

Método

1. Agregue solución salina a las heces sólidas o semisólidas hasta formar una pasta homogénea.
2. Duplique aproximadamente el volumen de heces agregando carbón vegetal granulado de madera noble y mezcle bien.*
3. De un disco de papel secante, corte una tira de 12 cm tan ancha como un tubo de 15 ml.
4. Vierta 3–4 ml de solución salina en un tubo de 15 ml.
5. Disperse la muestra de heces con una espátula de madera sobre 4–5 cm en el centro de la tira de papel y deje ambos extremos limpios (unos 4 cm a cada lado).
6. Inserte la tira en el tubo y evite el contacto de las heces con la solución salina.
7. Corte el exceso de papel secante que sale del tubo y cierre este con un tapón o un taco de algodón.
8. Almacene el tubo en una gradilla a 24–28 °C durante 10 días y verifique cada día que el nivel de solución salina no haya variado
9. Abra el tubo y elimine la tira de papel.
10. Transfiera la solución a un tubo nuevo con una pipeta y agregue 12 ml de formol al 5%.
11. Después de 1 hora, centrifugue a 500 g durante 2 minutos y elimine el sobrenadante.
12. Suspenda de nuevo el sedimento con una pipeta, transfiera una gota de la solución sobre un portaobjetos, cúbrala con un cubreobjetos y examine en el microscopio. Se puede agregar una gota de solución yodada de Lugol para acentuar los detalles morfológicos.



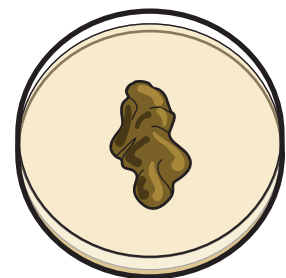
* Es posible no agregar carbón vegetal; sin embargo, su presencia aumenta la sensibilidad de la técnica.

Técnica de Koga en placa de agar

El cultivo en placa de agar se considera el método más eficiente para detectar larvas de *S. stercoralis* y debe ser la técnica preferida, sobre todo en los pacientes inmunodeprimidos.

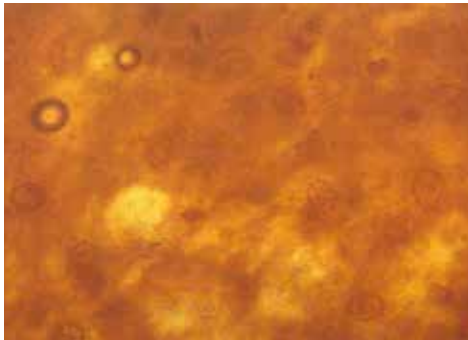
Método

1. Agregue solución salina a las heces sólidas o semisólidas hasta formar una pasta homogénea.
2. Duplique aproximadamente el volumen de heces agregando carbón vegetal granulado de madera noble y mezcle bien.*
3. Coloque unos 6–7 g de heces en el centro de la caja de Petri con agar medio (agar 1,5%, extracto de carne de 0,5%, peptona 1,0% y NaCl 0,5%). No añada más de 10 ml de medio por caja, a fin de obtener una capa delgada de medio.
4. Selle la placa con cinta adhesiva y consérvela en la oscuridad a 26–33 °C durante 48 horas. Para detectar anquilostomas, se debe prolongar el tiempo de incubación a 7 días.
5. Examine la placa en un microscopio estereoscópico en busca de larvas o de sus rastros en el medio. Si el examen es positivo, cubra el agar con formol al 5% y déjelo reposar durante 30–60 minutos.
6. Transfiera el líquido a un tubo con una pipeta, centrifugue a 500 g durante 2 minutos y elimine el sobrenadante.
7. Suspenda de nuevo el sedimento con una pipeta, transfiera una gota de la solución sobre un portaobjetos, cúbrala con un cubreobjetos y examine en el microscopio. Se puede agregar una gota de solución yodada de Lugol para acentuar los detalles morfológicos.

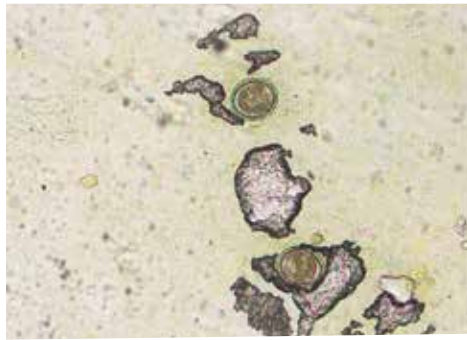


* Es posible no agregar carbón vegetal; sin embargo, su presencia aumenta la sensibilidad de la técnica.

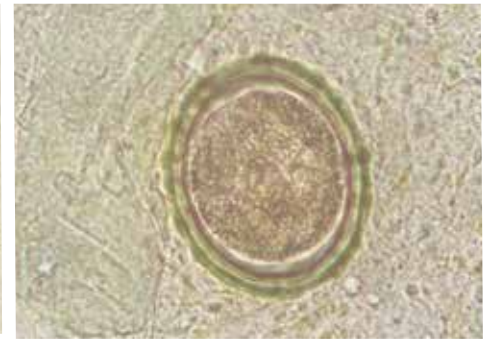
Apariencia de algunos huevos de parásitos en una preparación de Kato Katz



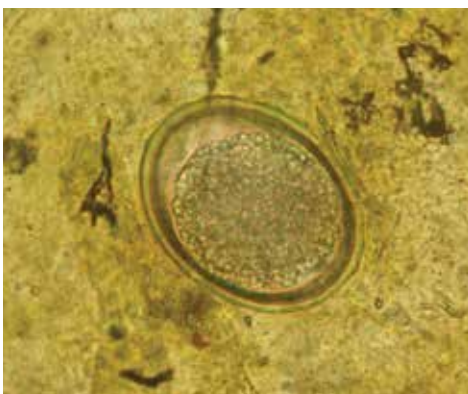
Ascaris lumbricoides en un frotis en capa gruesa de Kato Katz, en proceso de aclaramiento. El aclaramiento completo requiere algunos minutos más. Algunos huevos están disimulados en el fondo



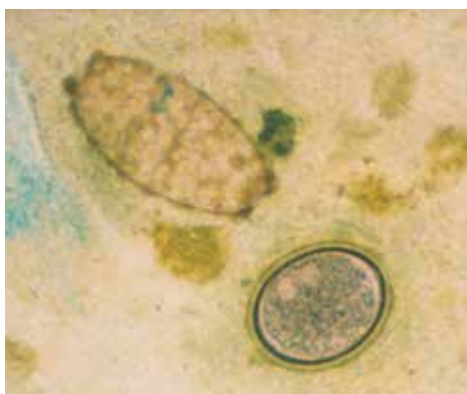
A. lumbricoides Dos huevos visibles en medio del aire atrapado en el frotis. Preparación de Kato Katz



A. lumbricoides Huevo fecundo característico como aparece en una preparación de Kato Katz



A. lumbricoides Huevo decorticado en una preparación de Kato Katz



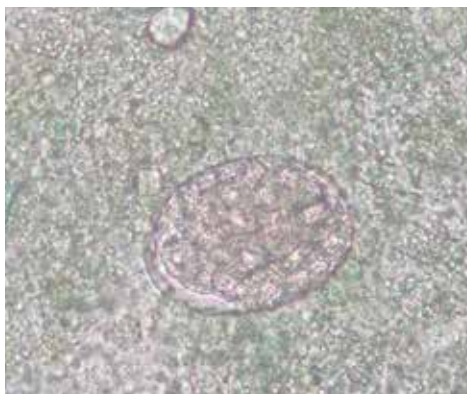
A. lumbricoides Huevo fértil (inferior) y huevo infértil (superior) en una preparación de Kato Katz



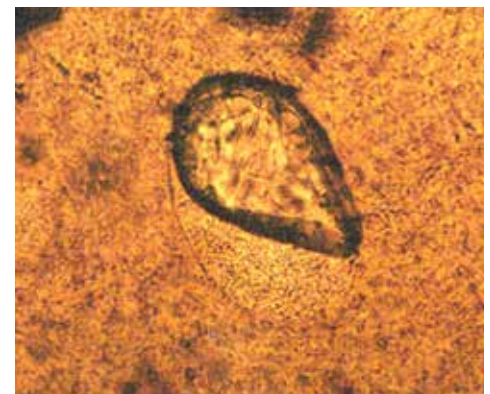
Trichuris trichiura Los huevos en las preparaciones de Kato Katz pueden parecer hinchados y de mayor tamaño que los huevos de *A. lumbricoides*, con un contenido degenerado. Las prominencias bipolares no siempre están bien definidas



T. trichiura y huevo de **A. lumbricoides** en una preparación de Kato Katz



Ankylostomidae Los huevos en preparaciones de Kato Katz suelen ser casi redondos y cada vez más difíciles de observar durante el proceso de aclaramiento



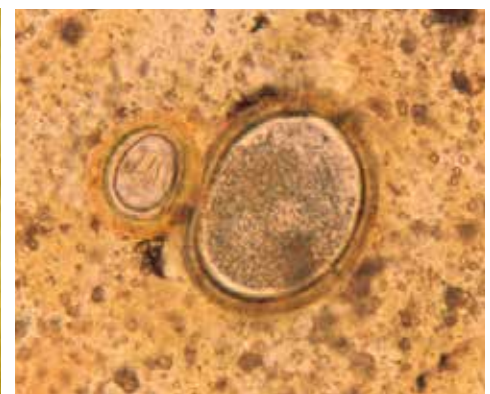
Ankylostomidae Huevo que permaneció demasiado tiempo en la preparación de Kato Katz antes del examen. Se observa una burbuja de aire atrapada y el huevo ya casi ha desaparecido



Schistosoma mansoni Los huevos se identifican fácilmente por su tamaño y forma, y la presencia de una espícula lateral. Preparación de Kato Katz



S. japonicum La espícula del huevo rara vez se ve y el miracidio se pierde de vista rápidamente. El tamaño y el espesor de la cubierta ayudan a identificar la especie. Preparación de Kato Katz



Taenia spp. y **A. lumbricoides** Dentro del huevo de *Taenia* aún se pueden observar los ganchos. Preparación de Kato Katz

Frotis fecal grueso en celofán

Técnica de Kato Katz para las geohelmintiasis

La técnica de Kato Katz es el método de diagnóstico recomendado en el seguimiento de los programas de tratamiento en gran escala ejecutados para el control de las geohelmintiasis, debido a su formato sencillo y su facilidad de uso en el terreno. Otras técnicas posibles son la de McMaster y el FLOTAC.

Existen estuches de diagnóstico comerciales para uso inmediato en el terreno.

Materiales y reactivos

1. Aplicadores (palillos) de madera.
2. Rejilla (acero inoxidable, nylon o plástico: malla de 60-105 μm) (fig. 1).
3. Plantilla (acero inoxidable, plástico o cartón) (fig. 1). Un agujero de 9 mm en una plantilla de 1 mm de espesor suministra alrededor de 50 mg de heces; un agujero de 6 mm en una plantilla de 1,5 mm de espesor, 41,7 mg; y un agujero de 6,5 mm en una plantilla de 0,5 mm de espesor, 20 mg. Siempre se debe utilizar el mismo tamaño de plantilla, a fin de que los datos de prevalencia e intensidad sean comparables y reproducibles.
4. Espátula (plástico) (fig. 1).
5. Portaobjetos (75 x 25 mm).
6. Celofán hidrofílico (40-50 μm de espesor, tiras de 25 x 30 o 25 x 35 mm).
7. Frasco de fondo plano con tapa, pinzas y papel higiénico o absorbente.
8. Papel periódico.
9. Solución de glicerina y verde de malaquita (se agrega 1 ml de verde de malaquita acuosa al 3% a 100 ml de glicerina y 100 ml de agua destilada, y se mezcla bien). Esta solución se vierte sobre las tiras de celofán en un frasco y se deja reposar como mínimo 24 horas antes de utilizarlas.

Método

1. Deposite una cantidad pequeña de la muestra fecal sobre un papel de periódico y coloque encima la rejilla de nylon. Con una espátula, haga presión para que las heces pasen a través de la rejilla (fig. 2).
2. Rotule un portaobjetos de vidrio con el número de la muestra y coloque una plantilla con agujero en el centro de un portaobjetos. Llène a ras el agujero de la plantilla con la materia fecal pasada por la rejilla, evite crear burbujas de aire y elimine el exceso (fig. 3).
3. Levante la plantilla con cuidado y colóquela en un balde de agua mezclada con detergente concentrado y desinfectante para que pueda utilizarse de nuevo.
4. Coloque sobre la muestra fecal una tira de celofán que haya estado en remojo durante una noche en la solución de glicerol (fig. 4).
5. Invierta el portaobjetos (fig. 5) y apriete firmemente la muestra contra la tira de celofán, sobre otro portaobjetos o una superficie dura lisa, con el fin de extender las heces en un círculo (fig. 6).
6. Recoja de nuevo el portaobjetos, deslizándolo con suavidad hacia un lado para que no se desprenda la tira de celofán o levántelo con cuidado. Coloque el portaobjetos sobre la mesa con el celofán hacia arriba. El agua se evapora mientras el glicerol aclara las heces. El aclaramiento ha terminado cuando es posible leer la letra del periódico a través del frotis de heces (fig. 7).
7. Para todos los huevos, excepto los de anquilostoma, mantener el portaobjetos durante una hora o más a temperatura ambiente a fin de aclarar la materia fecal, antes de examinarlo en el microscopio. Se puede acelerar el aclaramiento y el examen colocando el portaobjetos en una incubadora a 40 C° o exponiéndolo a la luz solar directa durante varios minutos.
8. Los huevos de *A. lumbricoides* y *T. trichiura* permanecerán visibles y reconocibles durante muchos meses. Los huevos de anquilostoma se aclaran rápidamente y dejan de ser visibles al cabo de 30-60 minutos. Los huevos de esquistosoma pueden reconocerse hasta varios meses después, pero es preferible examinar las preparaciones en las primeras 24 horas.
9. El examen del frotis tiene que ser sistemático. Luego, multiplique por el factor apropiado para obtener el número de huevos por gramo de heces (20 si la plantilla es de 50 mg; 50 si la plantilla es de 20 mg; y 24 cuando la plantilla es de 41,7 mg).

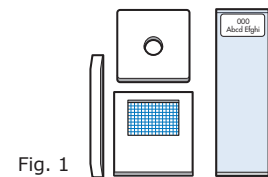


Fig. 1

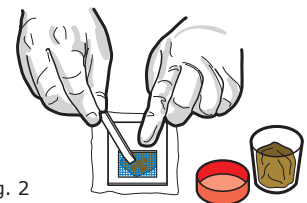


Fig. 2

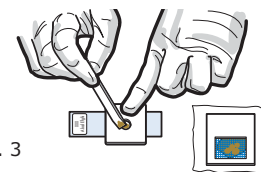


Fig. 3



Fig. 4



Fig. 5



Fig. 6

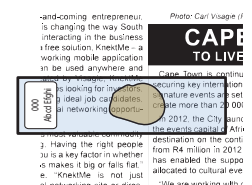
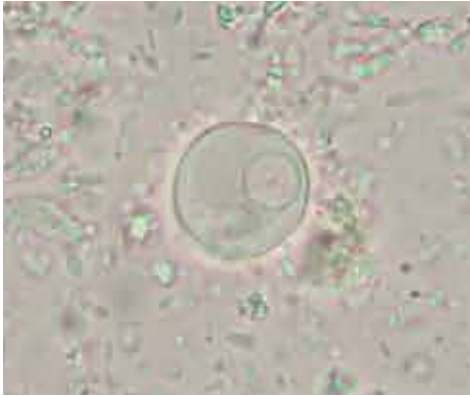
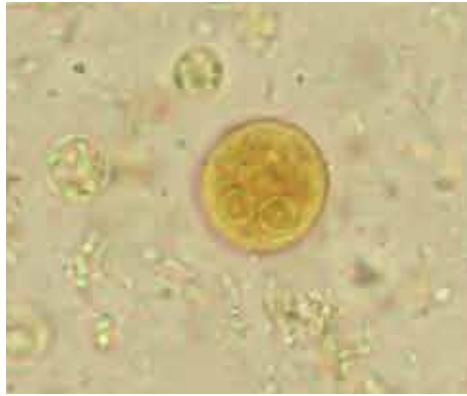


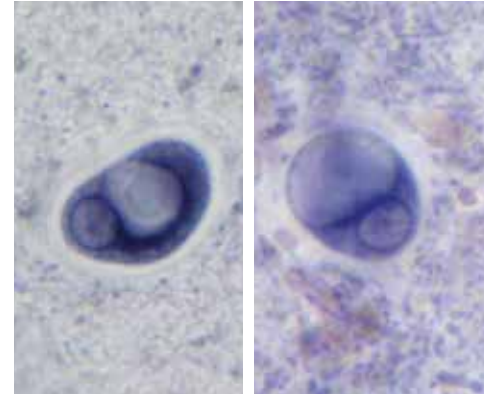
Fig. 7



Entamoeba histolytica/E. dispar Quiste inmaduro, mononucleado, sin tinción. Tamaño: 12-15 µm



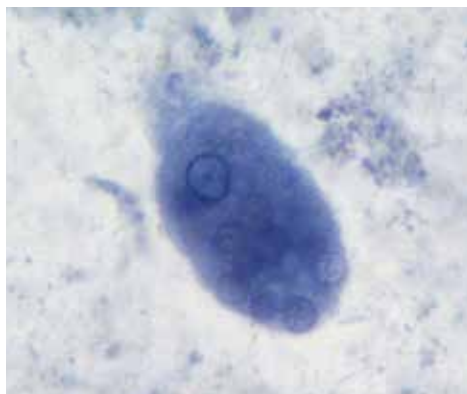
E. histolytica/E. dispar Quiste inmaduro, binucleado. Nótese que los quistes maduros tienen 4 núcleos. Lugol



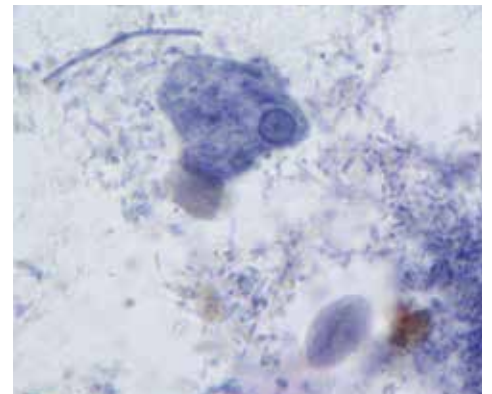
E. histolytica/E. dispar Quistes inmaduros, mononucleados con vacuola de glucógeno. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



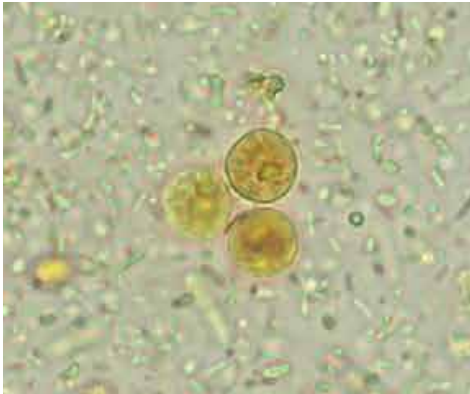
E. histolytica Trofozoito hematófago que contiene glóbulos rojos. Los trofozoitos suelen medir 15-20 µm (entre 10-60 µm) y tienden a ser más alargados en las heces diarreicas. Los glóbulos rojos fagocitados también pueden estar presentes en *E. dispar*



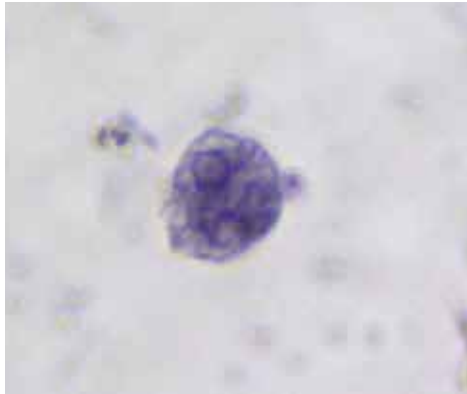
E. histolytica Trofozoito hematófago con un núcleo característico y cariosoma compacto pequeño, central; la cromatina periférica se distribuye de manera homogénea en la membrana nuclear y se observan muchos glóbulos rojos ingeridos. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



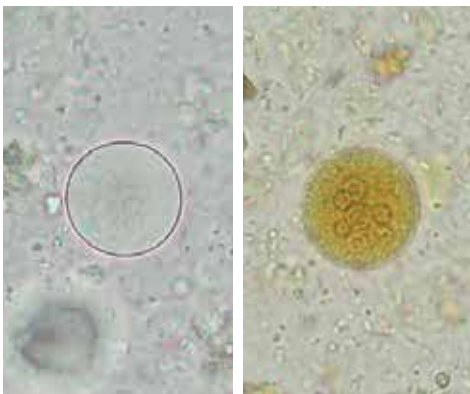
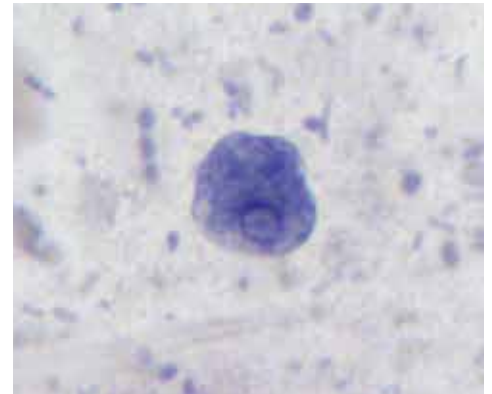
E. histolytica/E. dispar Trofozoito y quiste de *Giardia duodenalis* (tamaño: 8-14 x 6-10 µm), con tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. Los quistes y los trofozoitos no hematófagos de *E. histolytica* y *E. dispar* no se pueden distinguir al microscopio



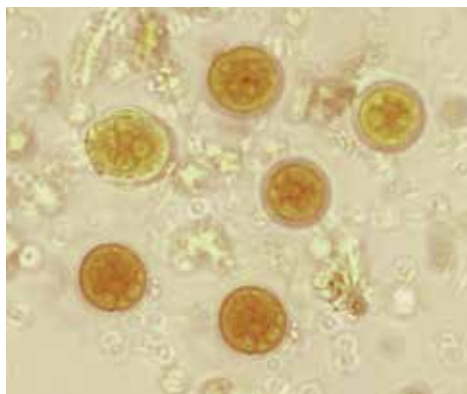
E. hartmanni Los quistes son semejantes a los quistes de *E. histolytica*, pero más pequeños (entre 5-10 µm); esta es una característica fundamental para el diagnóstico diferencial. Lugol



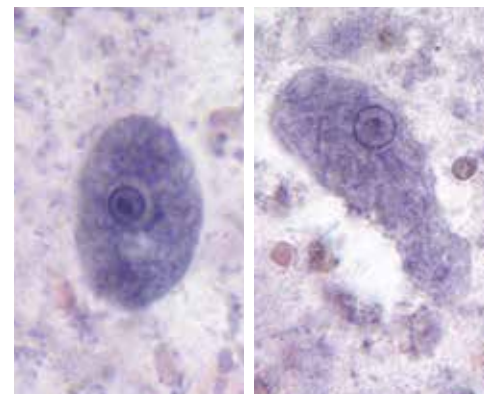
E. hartmanni Trofozoitos con tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamaño: 5-15 µm



E. coli Quistes maduros con más de 4 núcleos visibles. Izquierda: sin tinción; derecha: Lugol



E. coli Quistes maduros. Lugol. Tamaño: 10-35 µm



E. coli Trofozoitos con tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. Nótese el cariosoma central más denso, en comparación con el cariosoma de los trofozoitos de *E. histolytica/E. dispar*. Tamaño: 15-50 µm

Frotis fecales directos

Preparaciones microscópicas frescas en solución salina y solución yodada

Estos métodos se utilizan principalmente para detectar trofozoítos y larvas móviles, glóbulos rojos, leucocitos, cristales de Charcot-Leyden (preparación salina) y quistes de protozoos (preparación yodada, Lugol). Cuando se examinan heces diarreicas o líquidas que contienen moco, se deben utilizar ambas preparaciones con la parte mucosa de las heces.

Método

1. Deposite una gota de solución salina en el lado izquierdo del portaobjetos y una gota de solución yodada de Lugol (véase la lámina 3) en el lado derecho del mismo (fig. 1).
2. Tome cerca de 2 mg de muestra fecal (la cantidad recogida con el extremo de un aplicador) y emulsione bien las heces en la gota de solución salina (fig. 2).
3. Repita el paso y agregue una cantidad equivalente de muestra a la gota yodada (use aplicadores diferentes para cada gota). El yodo inactivará todo organismo presente; por lo tanto, no se observará motilidad.
4. Coloque un cubreobjetos sobre cada suspensión, apoyándolo primero sobre el borde de la gota y luego adosándolo con cuidado al portaobjetos para no crear ninguna burbuja de aire.
5. Examine en el microscopio.



Fig. 1

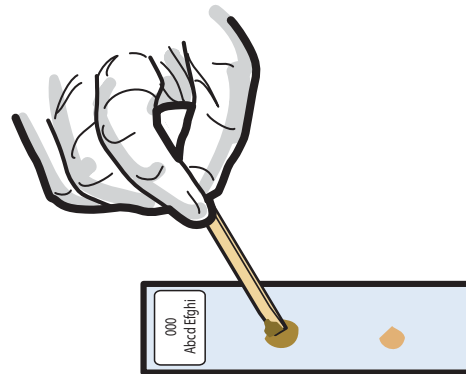


Fig. 2

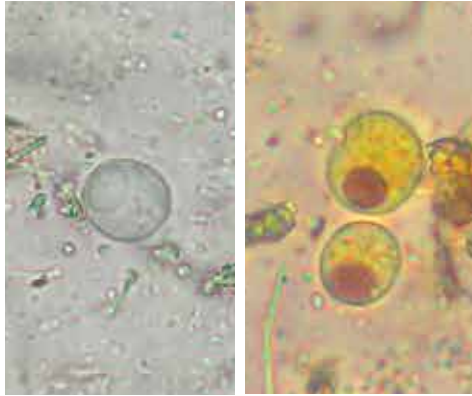
Tinción negativa de Heine

Esta preparación temporal es útil para el tamizaje rápido de *Cryptosporidium* spp. Las muestras dudosas o equívocas se pueden confirmar con la tinción de Ziehl Neelsen modificada.

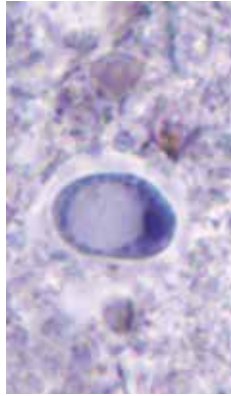
Método

1. Deposite dos gotas de heces diarreicas o blandas sobre un portaobjetos.
2. Agregue dos gotas de carbol fucsina y mezcle bien.
3. Extienda de manera homogénea el material, deslizando un segundo portaobjetos sobre el primero, hasta obtener un frotis delgado.
4. Deje secar el portaobjetos al aire.
5. Cuando esté seco, deposite de inmediato dos gotas de aceite de inmersión sobre la preparación y cubra con un cubreobjetos.
6. Examine con el objetivo 40x y descienda (levemente) la posición del condensador.

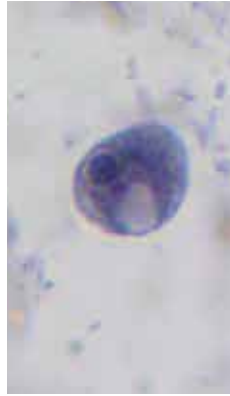
Nota: Los portaobjetos se tienen que examinar de inmediato, pues los ooquistes se deterioran rápidamente. Los ooquistes aparecerán como estructuras sumamente refringentes sin coloración, sobre un fondo de color rosado.



Iodamoeba bütschlii Quiste sin tinción (izquierda), la vacuola de glucógeno es apenas visible; quistes con vacuolas de tinción oscura, muy visibles (derecha). Lugol. Tamaño: 5-20 μ m



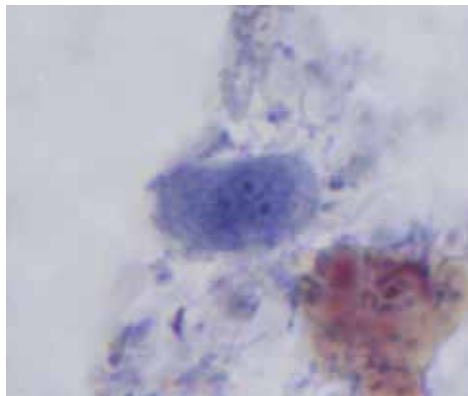
I. bütschlii Quistes; nótese el núcleo único y la vacuola de glucógeno; tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



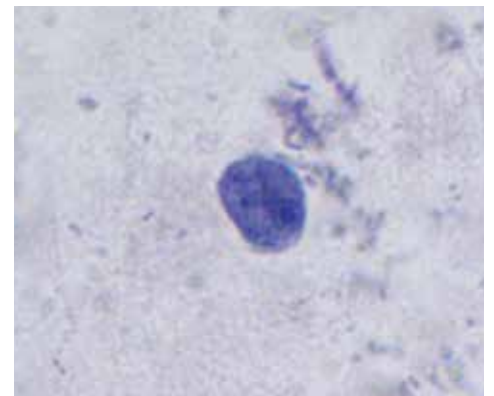
I. bütschlii Trofozoíto, sin tinción. Tamaño: 8-20 μ m



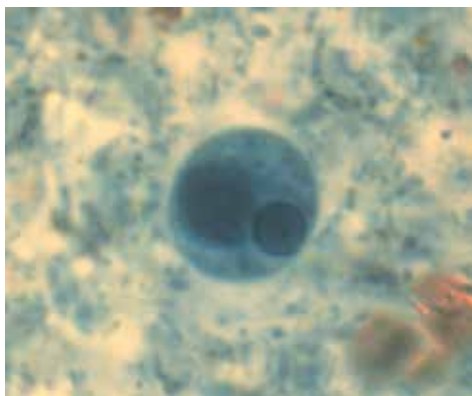
Endolimax nana Quistes. A la izquierda, con cuatro núcleos, cada uno ocupado en su mayor parte por un cariosoma grande, que aparece refringente al examen microscópico directo, sin tinción; a la derecha, Lugol. Tamaño: 5-10 μ m



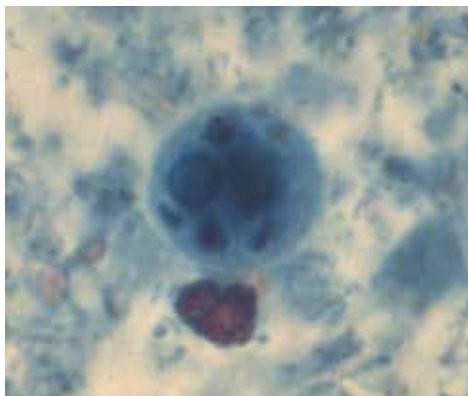
E. nana Quiste. Se observan tres de los cuatro núcleos. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



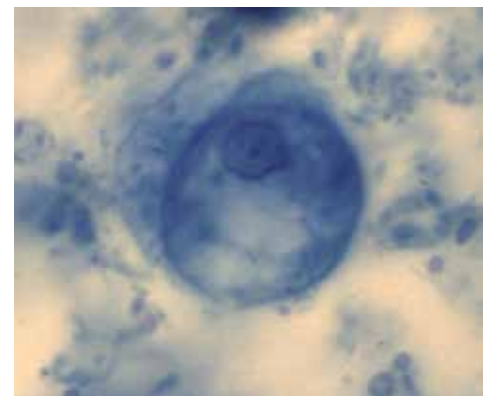
E. nana Trofozoíto que presenta un núcleo grande con cariosoma redondo. En forma característica, la membrana nuclear carece de cromatina periférica. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamaño: 6-12 μ m



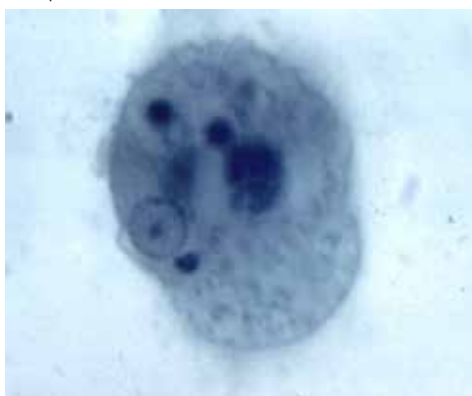
Entamoeba polecki Quiste mononucleado. Tinción tricrómica. *E. polecki* es, junto con *E. moshkovskii* y *E. bangladeshi*, morfológicamente idéntico a *E. histolytica/E. dispar*. Tamaño: 9-25 μ m



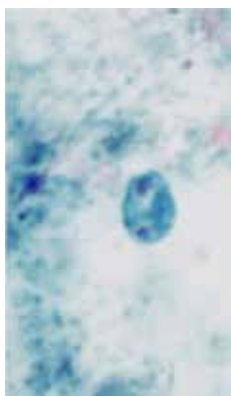
E. polecki Quiste mononucleado. Tinción tricrómica. *E. polecki* es junto con *E. moshkovskii* y *E. bangladeshi*, morfológicamente idéntico a *E. histolytica/E. dispar*



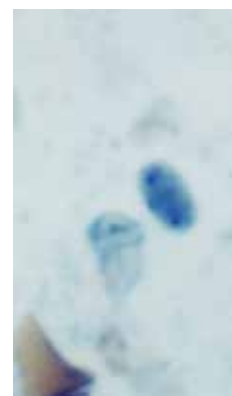
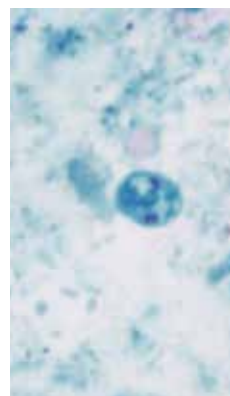
E. polecki Trofozoíto. Tinción tricrómica. *E. polecki* es junto con *E. moshkovskii* y *E. bangladeshi*, morfológicamente idéntico a *E. histolytica/E. dispar*. Tamaño: 10-25 μ m



Entamoeba gingivalis Trofozoíto. El núcleo excéntrico contiene un cariosoma punteado y fino con cromatina periférica de distribución homogénea. Muchas vacuolas endocíticas están presentes en el citoplasma. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamaño: 10-20 μ m



Enteromonas hominis Los quistes son semejantes a los de *E. nana*, pero binucleados. Tinción tricrómica. Tamaño: 6-8 x 3-4 μ m



E. hominis Trofozoíto y quiste (a la izquierda). Los cuatro flagelos de los trofozoitos son apenas visibles. El quiste maduro contiene normalmente cuatro núcleos, dos en cada extremo (a la derecha). Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. Tamaño de los trofozoitos: 3-6 μ m

Métodos de tinción para protozoos en las heces

En la lámina 7 se indica cómo se emplea la solución yodada de Lugol para teñir las preparaciones en fresco de muestras fecales recientes o conservadas en formol. A continuación se exponen algunos métodos de tinción permanente de los frotis preparados con material fecal fresco o con conservante.

Tinciones permanentes para frotis fecales

Todas las soluciones deben almacenarse en botellas limpias, rotuladas y con fecha.

Tinción tricrómica

Tinción excelente para las heces frescas, sin conservante. Los resultados no son satisfactorios en materiales conservados con SAF o formol.

Preparación

En un matraz limpio agregue 10 ml de ácido acético glacial a 6 g de cromotropo 2R, 3 g de verde claro SF y 7 g de ácido fosfotúngstico. Agítelo para mezclar y deje reposar durante 30 minutos. Agregue 1000 ml de agua destilada y mezcle bien; la tinción debe tener un color violeta oscuro. Guárdelo en una botella con tapón de cristal; la tinción es estable y se usa sin diluir.

Método de tinción

Sumerja las preparaciones fijadas en alcohol al 70% durante 2 minutos. Agregue solución yodada de Lugol diluida al etanol al 70% hasta obtener un color de té cargado: mantenga los portaobjetos en la solución durante 5 minutos. Lave dos veces los portaobjetos con alcohol al 70%. Tiña las preparaciones con coloración tricrómica sin diluir durante 10 minutos. Retire las preparaciones, séquelas bien y colóquelas en alcohol acidificado al 90% (se prepara añadiendo 4,5 ml de ácido acético glacial a 1 l de etanol al 90%) durante 2-3 segundos. Sumerja las preparaciones en alcohol al 95% para enjuagarlas y deshidrátelas luego en etanol al 100% y xileno o en la mezcla carbol xileno. Cubra el frotis con un cubreobjetos, usando medio de montaje de resina.

Tinción de hematoxilina férrica

Tinción excelente para las heces frescas y sin conservante, y para los frotis conservados en SAF (acetato sódico-ácido acético-formol) y formol.

Preparación

Solución madre A: disuelva 1 g de cristales de hematoxilina en 100 ml de alcohol al 95%; deje reposar la solución a la luz del día durante una semana y luego fíltrela. Solución madre B: mezcle 1 g de sulfato ferroso de amonio, 1 g de sulfato férrico amónico y 1 ml de ácido clorhídrico en 97 ml de agua destilada. Prepare una solución de trabajo mezclando 25 ml de la solución madre A con 25 ml de la solución B; prepare al menos 3-4 horas antes de la tinción. Prepare una solución de ácido pícrico para decolorar, agregando 25 ml de ácido pícrico acuoso saturado a 25 ml de agua destilada.

Método de tinción

Sumerja los portaobjetos en alcohol al 70% durante 5 minutos; en alcohol al 50% durante 2 minutos; en agua del grifo 5 minutos; en solución de trabajo de tinción de hematoxilina durante 10 minutos; en agua destilada durante 1 minuto; en solución de ácido pícrico durante 1 minuto; en agua del grifo dejándola correr durante 10 minutos; en alcohol al 70% que contiene una gota de amoníaco durante 5 minutos; y en alcohol al 95% durante 5 minutos. Deshidrate con etanol al 100% y xileno o con la mezcla carbol xileno. Cubra el frotis con un cubreobjetos, usando medio de montaje de resina.

Técnica de Ziehl Neelsen modificada (tinción acidorresistente)

Para la detección de *Cryptosporidium*, *Cyclospora* y otras coccidiosis.

Reactivos

Etanol al 50%: agregue 50 ml de etanol absoluto a 50 ml de agua destilada.

Carbol fucsina, solución A: disuelva 4 g de fucsina básica en 20 ml de etanol al 95%. Solución B: disuelva 8 g de cristales de fénol en 100 ml de agua destilada. Mezcle las soluciones A y B.

Ácido sulfúrico al 1%: agregue 1 ml de ácido sulfúrico concentrado a 99 ml de agua destilada.

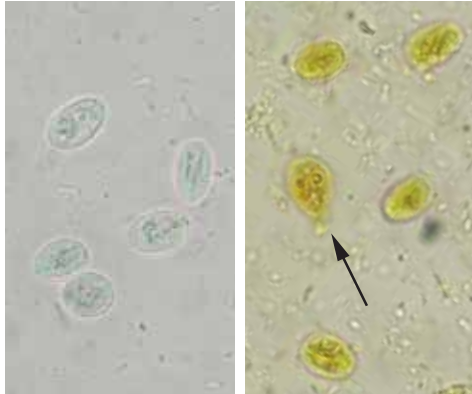
Azul de metileno alcalino: disuelva 0,3 g de azul de metileno en 30 ml de etanol al 95%. Agregue 100 ml de hidróxido de potasio diluido (0,01%).

Almacene todas las soluciones a temperatura ambiente. Son estables durante un año. Importante: indique la fecha de caducidad en la etiqueta.

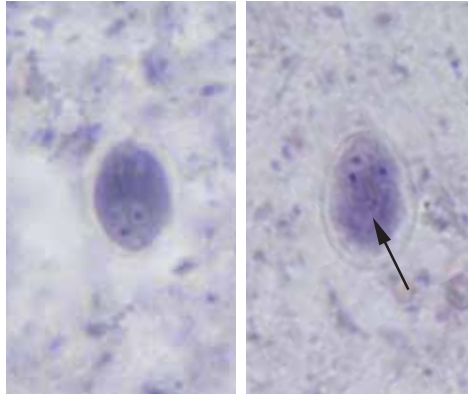
Método

Prepare un frotis fino de heces en un portaobjetos transparente y seco. Deje secar. Fije con metanol absoluto durante 30 segundos. Deje secar. Tiña el frotis con carbol fucsina durante 5 minutos. Enjuague durante 3-5 segundos con etanol al 50%. Enjuague con agua del grifo. Decolore con ácido sulfúrico al 1% hasta que el flujo pierda el color rosado (1-2 minutos, según el espesor de la preparación). Enjuague con agua del grifo y escurra. Tiña con azul de metileno durante 1 minuto. Enjuague, deje secar y examine utilizando aceite de inmersión.

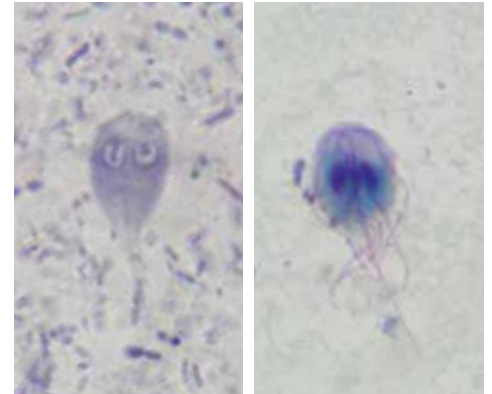
Nota: Esta técnica no se recomienda para los huevos de *Fasciola spp.* ni las larvas de *Strongyloides stercoralis*.



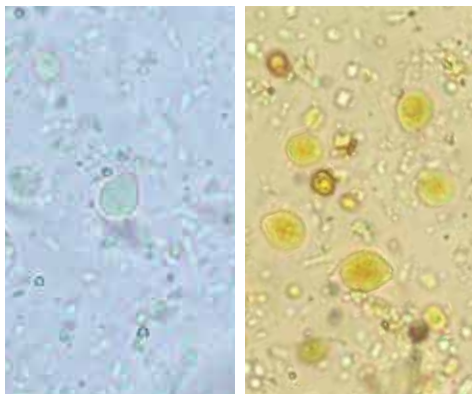
Giardia duodenalis A la izquierda: quistes sin tinción. A la derecha: quistes y trofozoito (flecha). Lugol. Tamaño: 8-12 x 7-10 µm



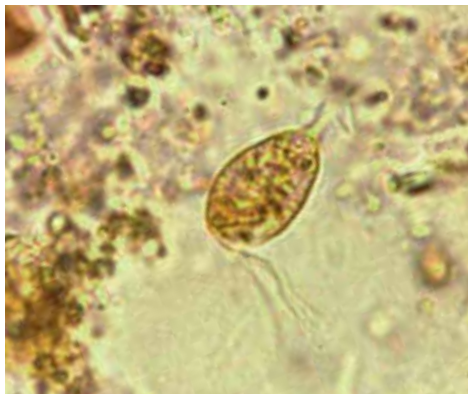
G. duodenalis Quistes. Se pueden observar tres de los cuatro núcleos presentes, los axonemas que dividen el quiste (a la izquierda) y algunos fragmentos del disco (flecha, a la derecha). Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



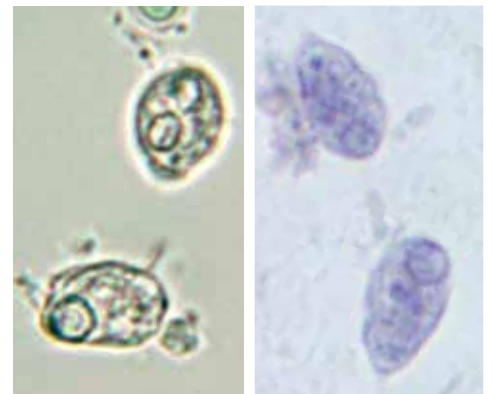
G. duodenalis Trofozoítos. A la izquierda: tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. A la derecha: la tinción de Giemsa define con precisión los cuatro pares de flagelos y dos núcleos grandes. Tamaño: 10-20 µm



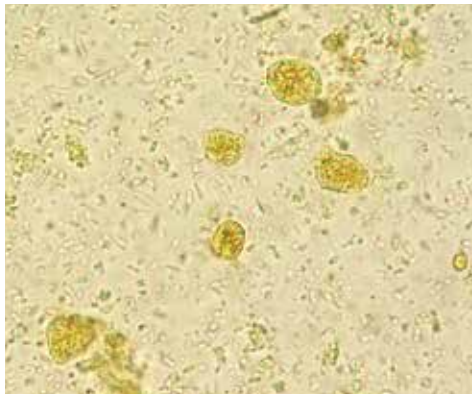
Chilomastix mesnili Quiste, con forma característica de pera. A la izquierda: sin tinción. A la derecha: quistes, en Lugol. Contorno impreciso de los núcleos y el citostoma. Tamaño: 7-9 µm



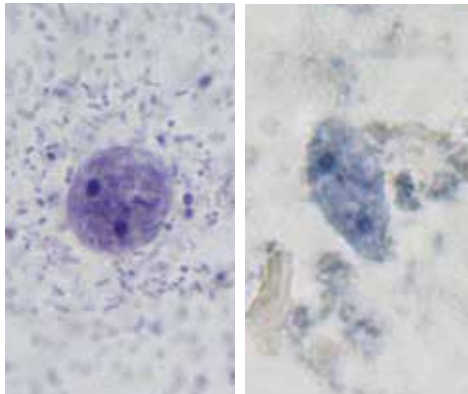
C. mesnili Trofozoíto con tres flagelos libres, núcleo y citostoma de contorno impreciso en el extremo anterior. Lugol. Tamaño: 12-20 x 5-6 µm



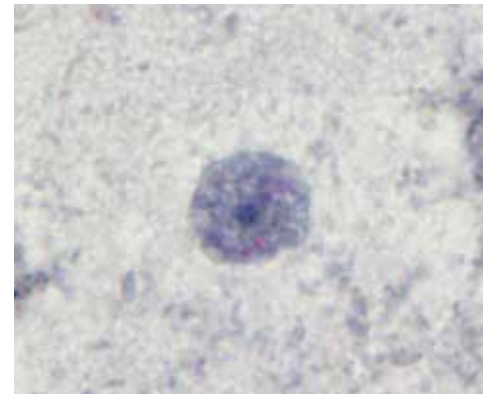
C. mesnili A la izquierda, trofozoítos y quiste, sin tinción. A la derecha: trofozoítos, tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



Dientamoeba fragilis Trofozoítos, en Lugol. Aparecen como cuerpos refringentes polimorfos, por lo cual se pueden interpretar erróneamente como artefactos (sobre todo leucocitos). Además, es necesario diferenciar morfológicamente los trofozoítos de otras amebas pequeñas no patogénicas. Tamaño: 5-15 µm



D. fragilis Trofozoítos binucleados con morfología diferente. En *D. fragilis* la forma quística es difícil de identificar. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun.



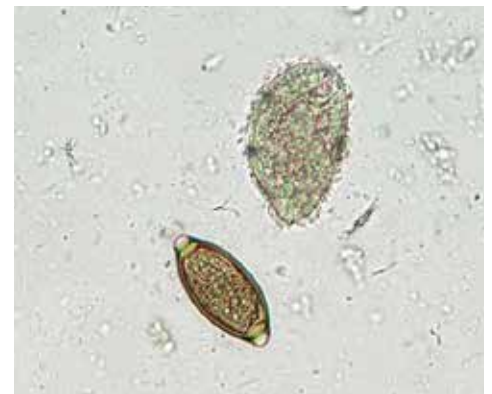
D. fragilis Trofozoíto mononucleado. Los cariosomas fragmentados se observan sin dificultad. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



Balantidium coli Izquierda: quiste con macronúcleo en forma de herradura poco visible, sin tinción. Derecha: enfocado en la superficie para poner en evidencia los elementos ciliares (flecha). Tamaño: 50-70 µm

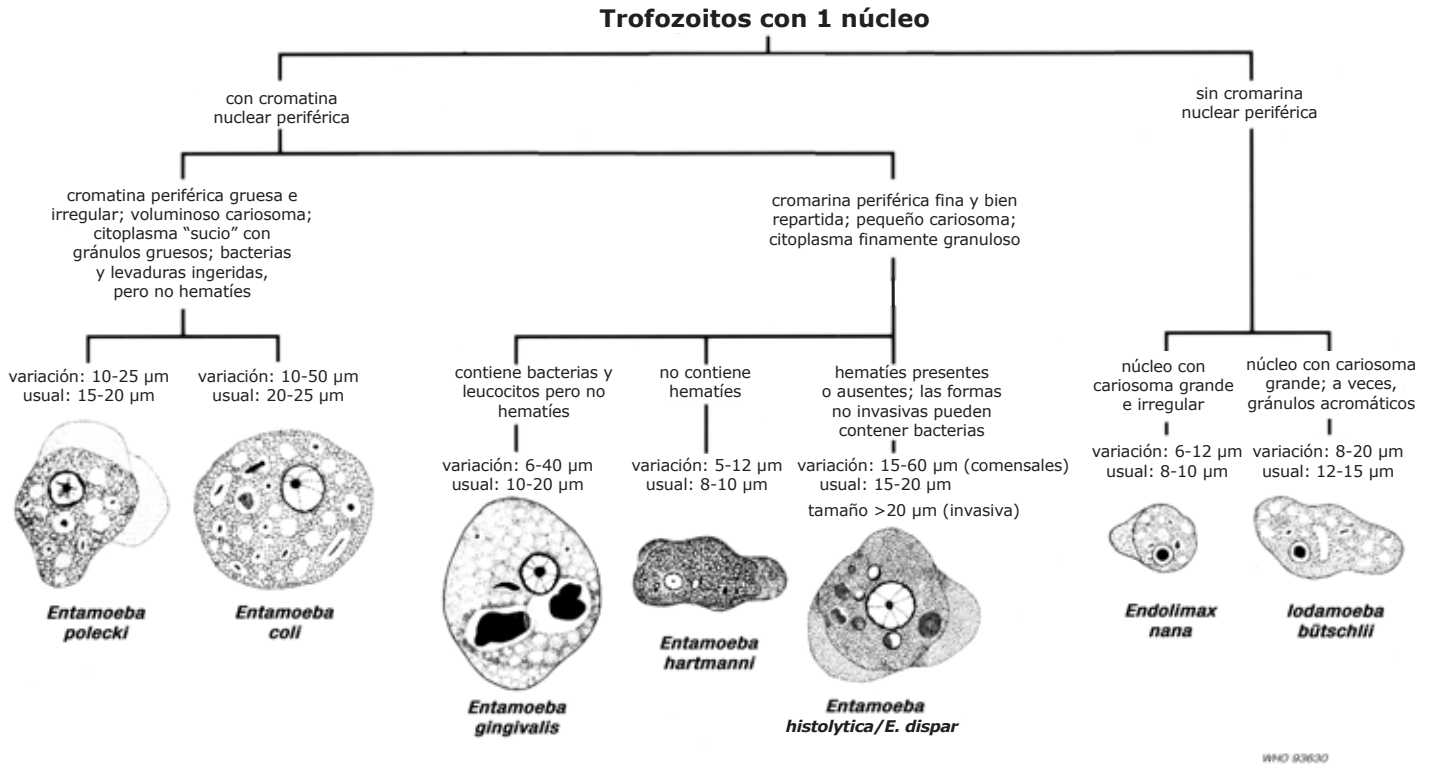


B. coli a la izquierda, sin tinción; a la derecha, Lugol. En ambos organismos, los cilios son visibles en la superficie, el citostoma en el extremo anterior (punta de flecha) y el citopigio hacia el extremo posterior (flecha). Tamaño: 40-200 x 40-70 µm

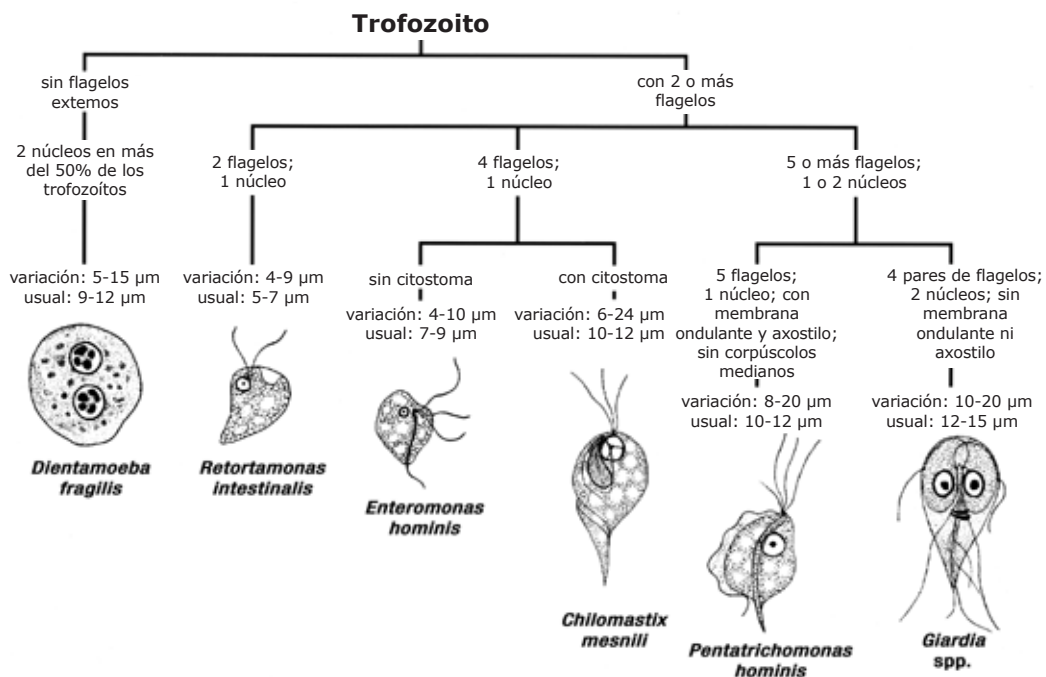


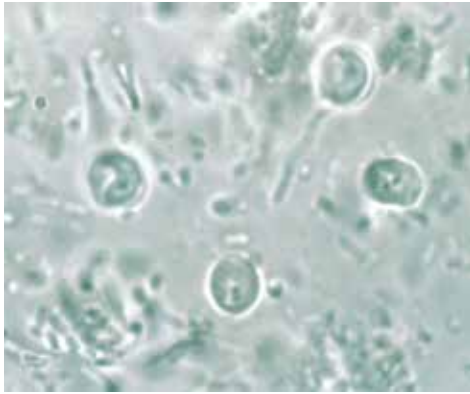
B. coli trofozoíto y huevo de *Trichuris trichiura*. Sin tinción

Clave para la identificación de trofozoítos amebianos en preparaciones teñidas

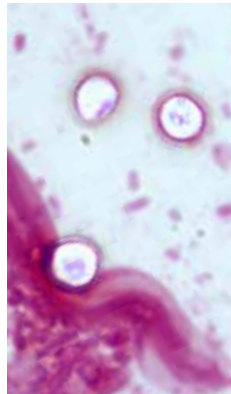


Llave para la identificación de trofozoítos de flagelados intestinales en frotis teñidos

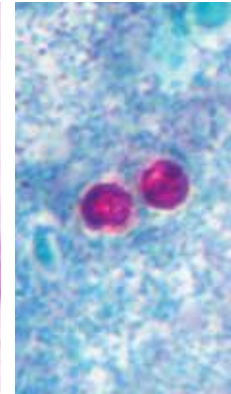
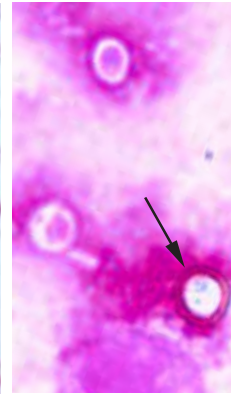




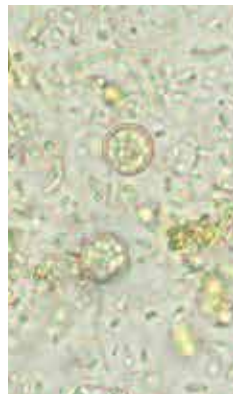
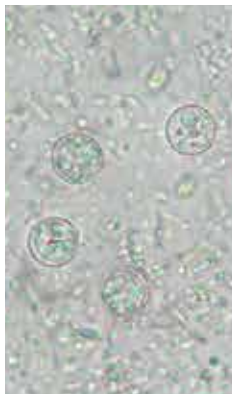
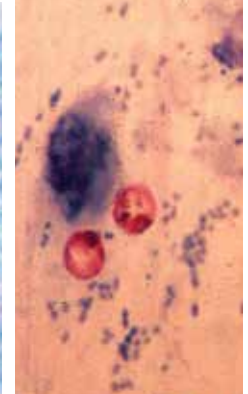
Cryptosporidium spp. Ooquistes en un frotis fijado en formol. Su tamaño pequeño (4-6 µm) y el gránulo dentro de los ooquistes son características útiles para el diagnóstico



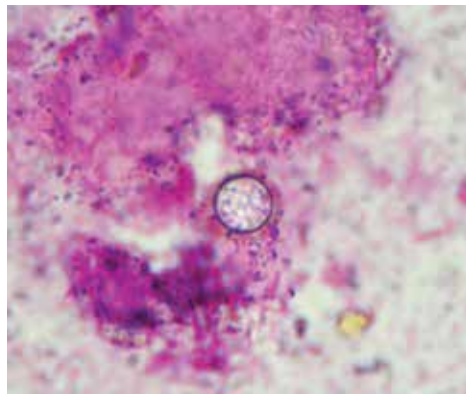
Cryptosporidium spp. Ooquistes, técnica de tinción negativa de Heine. Izquierda: aparecen tres ooquistes sin tinción, sumamente refringentes, con estructuras internas poco visibles. Derecha: un ooquiste visible (flecha) y dos artefactos



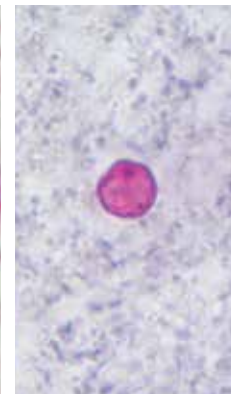
Cryptosporidium spp. Ooquiste. A la izquierda: dos ooquistes en las heces, tinción de Ziehl Neelsen. A la derecha: dos ooquistes obtenidos del esputo, tinción de Ziehl-Neelsen



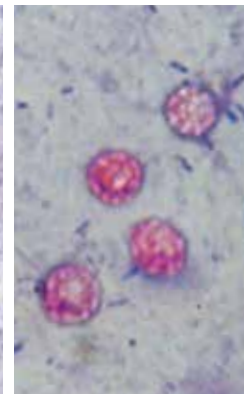
Cyclospora cayatanensis Ooquistes no esporulados. Miden 8-10 µm, son redondos, tienen aspecto refringente en los frotis frescos, la pared del ooquiste está bien delimitada y su contenido es granulado uniforme. Izquierda: sin tinción; derecha: Lugol



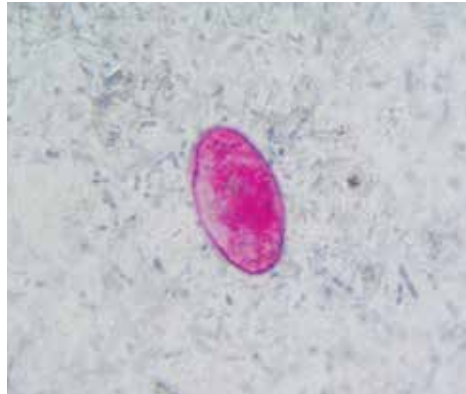
C. cayatanensis Ooquiste no esporulado, técnica de tinción negativa de Heine



C. cayatanensis Ooquistes no esporulados. A la izquierda: Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. A la derecha: Tinción de Ziehl-Neelsen



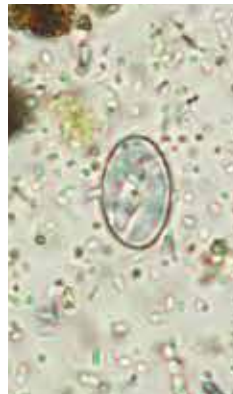
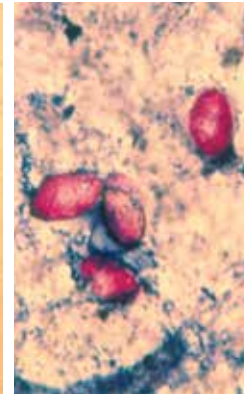
Cystoisospora belli Ooquistes. A la izquierda: no esporulados; a la derecha: esporulados con cuatro esporozoítos en cada uno de los dos esporoquistes. Sin tinción. Tamaño: 20-33 x 10-19 µm



C. belli Ooquiste no esporulado. Tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun



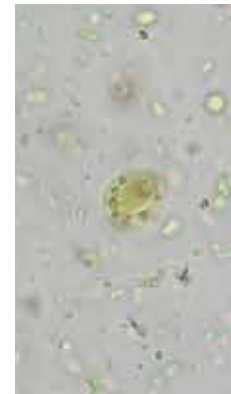
C. belli A la izquierda, ooquiste, junto con ooquiste de *Cryptosporidium*, tinción tricrómica. Ocasionalmente puede ocurrir una infección mixta, como esta, observada en un paciente viviendo con SIDA. A la derecha: ooquistes, tinción de Ziehl-Neelsen modificada



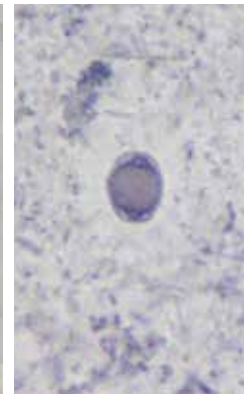
Sarcocystis spp. A la izquierda: ooquiste con dos esporoquistes, Lugol. A la derecha: esporoquiste, morfología encontrada con mayor frecuencia. Sin tinción. Tamaño de los ooquistes: 15-20 µm. Tamaño de los esporoquistes: 10 µm



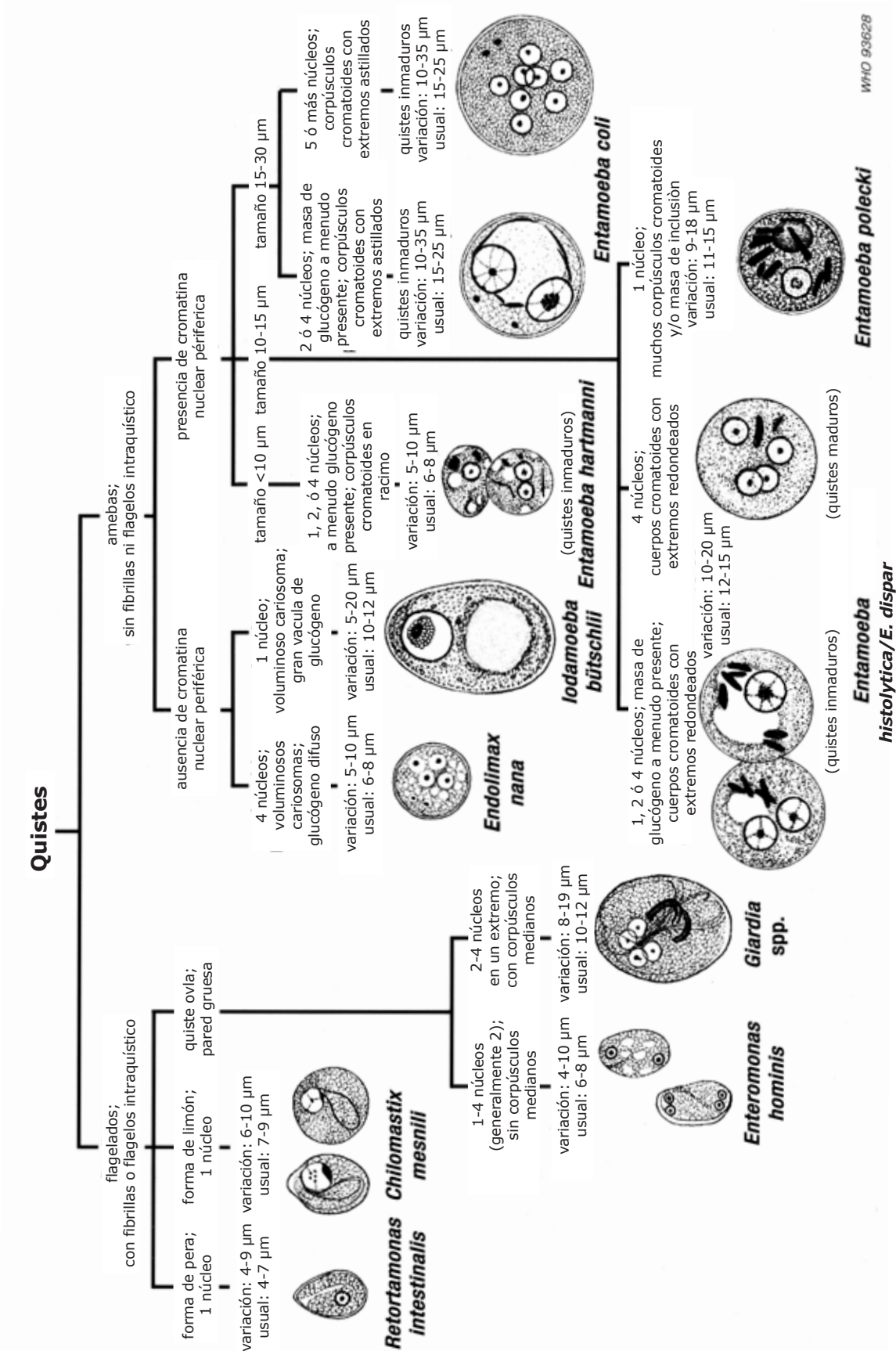
Sarcocystis spp. Los ooquistes esporulados se pueden romper fácilmente y liberar esporoquistes, como este. Técnica de tinción negativa de Heine

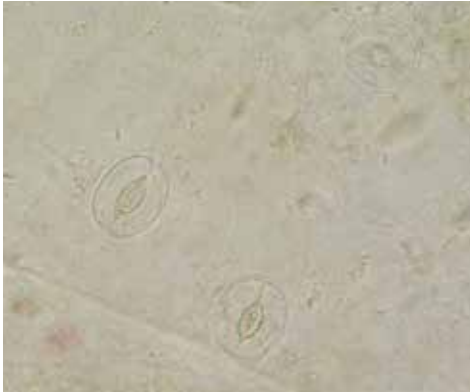


Blastocystis sp. Dos formas vacuolares caracterizadas por un órgano central grande y un anillo de citoplasma que contiene los núcleos y otros organelos celulares. A la izquierda: Lugol; a la derecha: tinción de hematoxilina férrica de Kinyoun. Su poder patogénico aún no está claro. Tamaño: 5-30 µm

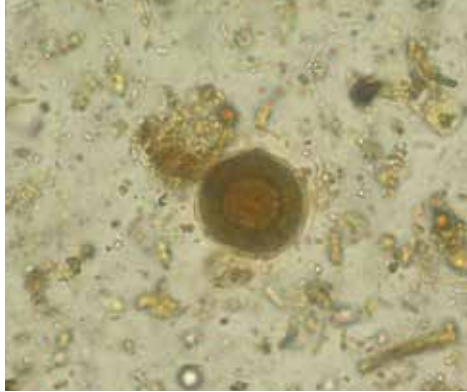


Clave para la identificación de los quistes de las amebas y los flagelados intestinales en frotis teñidos

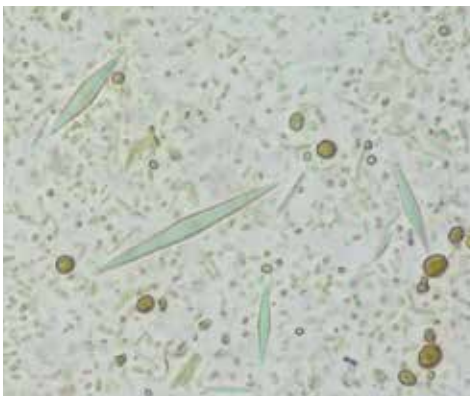




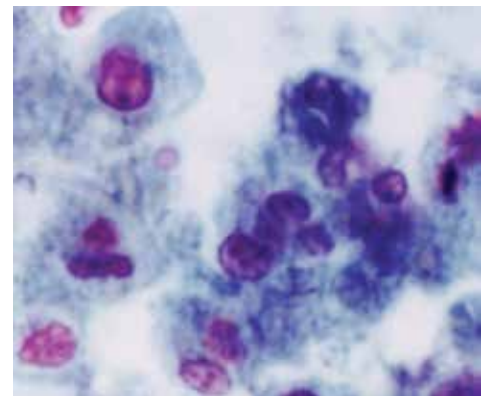
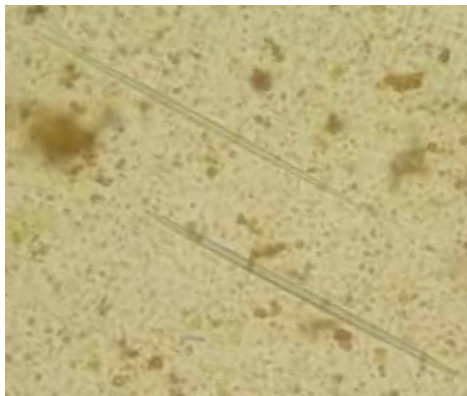
Material vegetal: en las heces se encuentra con frecuencia material vegetal, que en ocasiones presenta gran semejanza con los elementos parasitarios. Puede imitar por ejemplo, los huevos de *Himenolepis nana* (a la izquierda, nótese la ausencia de los ganchos característicos al interior) o los huevos de *Taenia* (a la derecha, nótese la ausencia de ganchos al interior)



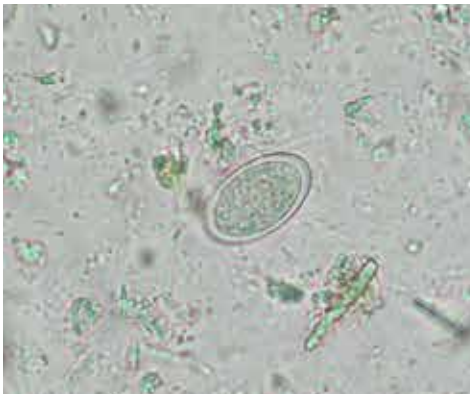
Tricomas de plantas: se pueden confundir con larvas de parásitos. Nótese su apariencia usualmente recta y un tallo central sin estructuras. Un extremo suele estar disgregado



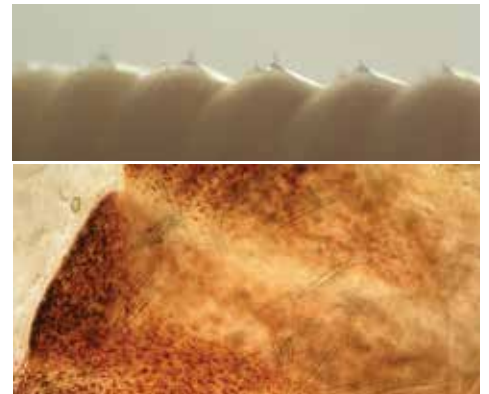
Cristales de Charcot Leyden: tienen una apariencia característica de "aguja de brújula" (a la izquierda). Son producto de la degradación de los leucocitos eosinófilos y se debe informar su presencia. No se deben confundir con los cristales que se producen en las heces por algunos tipos de frutas (a la derecha)



Leucocitos polimorfonucleares: se observan en conglomerados en el frotis con tinción tricrómica. Aunque se pueden interpretar erróneamente como amebas, el tamaño relativamente grande de los núcleos con respecto al citoplasma de la célula y su estructura indican que se trata de células inflamatorias



Ascosporas: son esporas de ascomicetos, un tipo de hongos de los cuales algunos son comestibles (por ejemplo, las setas de morel). Debido a su tamaño y forma oval se pueden confundir con *Giardia duodenalis*. Nótese la ausencia de las estructuras internas características



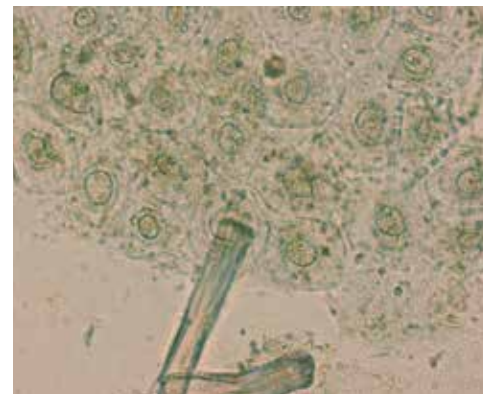
Oligoquetos (o lombrices de tierra): a veces se confunden con *Ascaris* adultos (o inmaduros). Los oligoquetos tendrán cerdas pequeñas, que se visualizan con una lupa binocular (superior) o mediante el examen de un fragmento de su piel al microscopio (inferior)



Huevos de Acarina: pueden asemejarse a los huevos de anquilostoma. Su tamaño, sin embargo, siempre supera los 100 µm. Suelen estar completamente llenos. En ocasiones se pueden distinguir en su interior las estructuras características (por ejemplo, patas)



Heterodera spp. o **Meloidogyne spp.** son nematodos parasitarios de las plantas. Sus huevos pueden confundirse con los huevos de uncinaria pero suelen ser más grandes y en forma de frijol. En ocasiones se ha formado una larva en su interior



Células epiteliales Lugol

Otras técnicas parasitológicas

Sedimentación de la orina para diagnosticar la esquistosomiasis

Esta técnica se utiliza con el fin de detectar huevos de *Schistosoma hematobios*. Ocasionalmente, también se pueden detectar los trofozoítos de *Trichomonas vaginalis* y las microfilarias de *Onchocerca volvulus* o *Wuchereria bancrofti*. Las tiras para evaluar la microhematuria y los estuches para la concentración y la filtración de los huevos están comercializadas.

Nota: En el diagnóstico de la esquistosomiasis tiene que usarse para la concentración la orina de la última parte de la micción recogida idealmente entre las 10:00 y las 14:00 horas, que contiene la concentración más alta de huevos. Es necesario examinar las muestras cuanto antes después de la recogida, pues los huevos pueden hacer eclosión y son más difíciles de identificar o reconocer (conservar la orina en la oscuridad hasta el examen puede retardar la eclosión). Además, durante el almacenamiento de la orina se pueden formar cristales, que hacen más difícil un diagnóstico correcto.

Método

1. Mezcle bien la muestra de orina con una jeringuilla y llene dos tubos cónicos de 15 ml.
2. Centrifugue los tubos a 2000 g durante 2 minutos. También se pueden dejar sedimentar las muestras durante una hora.
3. Elimine el sobrenadante invirtiendo los tubos.
4. Deposite unas pocas gotas de sedimento sobre un portaobjetos y cúbralas luego con un cubreobjetos.
5. Examine en el microscopio con el objetivo 10x.

Filtración de la orina

Se considera el "método de referencia" en el diagnóstico de la esquistosomiasis urinaria, pero el estuche para filtración de la orina exige técnicos de laboratorio capacitados y equipo adecuado.

Método

1. Desenrosque el soporte del filtro y coloque con cuidado un filtro en su interior; asegúrese de haberlo colocado en la posición correcta antes de ensamblar de nuevo la unidad.
2. Agite y mezcle la orina antes de recoger una muestra de 10 ml en la jeringuilla y luego ensamble el soporte del filtro.
3. Sujete la jeringa y la unidad en posición vertical, y empuje el émbolo hacia abajo a fin de expulsar toda la orina a través del filtro para que salga a una cubeta.
4. Retire con cuidado la jeringuilla de la unidad de filtración. aspire aire con la jeringuilla, ajústela de nuevo a la unidad de filtración y expulse el aire. Esto es importante porque permite eliminar la orina restante y garantiza que los huevos, de estar presentes, se peguen bien al filtro.
5. Desenrosque la unidad y retire el filtro y colóquelo sobre un portaobjetos (lado superior hacia arriba).
6. Agregue una gota de solución yodada de Lugol y espere 15 segundos para que la tinción penetre en los huevos. Esto facilita la visualización de los huevos.
7. Examine de inmediato todo el filtro con un microscopio en campo de poco aumento (objetivo 4x). Los huevos de esquistosoma se pueden ver claramente porque se tiñen de color naranja. Se registra el grado de infestación como el número de huevos por 10 ml de orina.

Prueba de la cinta adhesiva

Esta técnica se denomina también de la "cinta transparente" y es el método preferido para detectar los huevos y, en ocasiones, las hembras adultas de *Enterobius vermicularis* (oxiuro). Se debe realizar en la mañana antes de que el paciente vaya al baño o se bañe.

Método

1. Enrolle la cinta (lado adhesivo hacia afuera) sobre un bajalenguas de madera, haga presión firmemente con la cinta sobre los pliegues perianales derecho e izquierdo. Todo oxiuro o huevo de oxiuro presente en la piel se adherirá a la cinta.
2. Presione el lado adhesivo de la cinta sobre un portaobjetos y con un microscopio busque los oxiuros o los huevos de oxiuro.

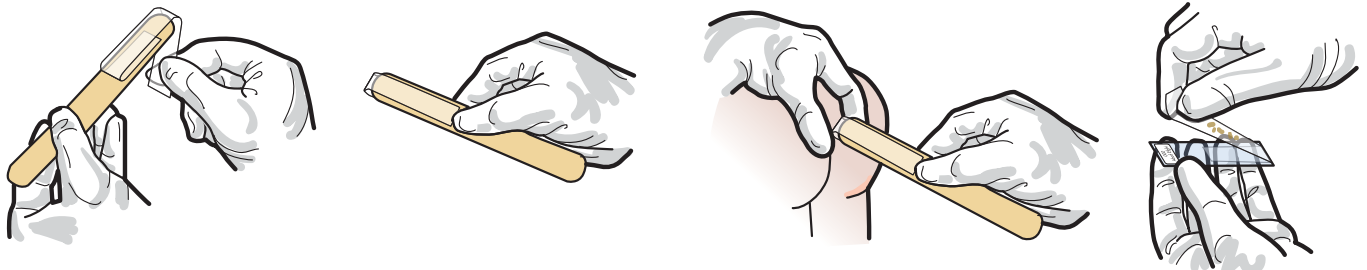
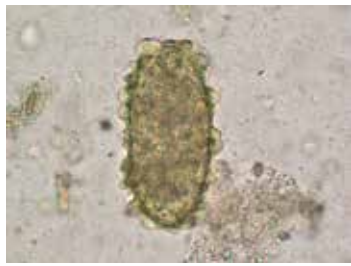


Lámina 12 Helmintos: panorama visual



Ascaris lumbricoides Lámina 1



Ascaris lumbricoides Lámina 1



Trichuris trichiura Lámina 1



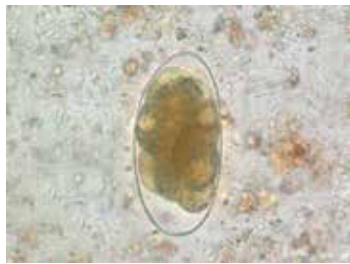
Capillaria philippinensis Lámina 1



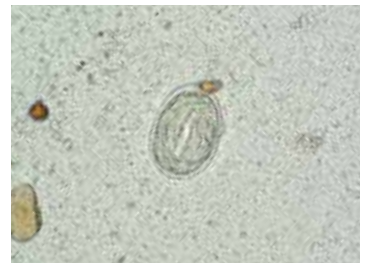
Capillaria aerophila Lámina 1



Ancylostomidae Lámina 2



Trichostrongylus spp. Lámina 2



Strongyloides stercoralis Lámina 2



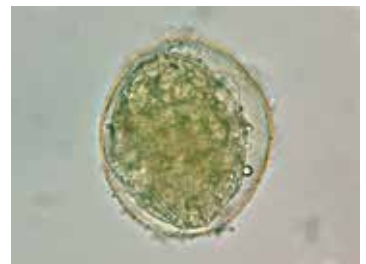
Enterobius vermicularis Lámina 2



Schistosoma mansoni Lámina 3



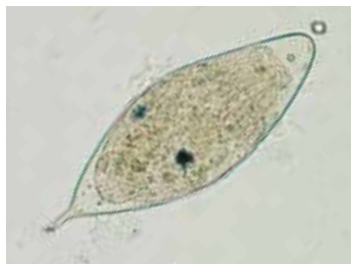
Schistosoma mekongi Lámina 3



Schistosoma japonicum Lámina 3



Schistosoma intercalatum Lámina 3



Schistosoma haematobium Lámina 3



Huevos similares a *Clonorchis* Lámina 4



Paragonimus spp. Lámina 4



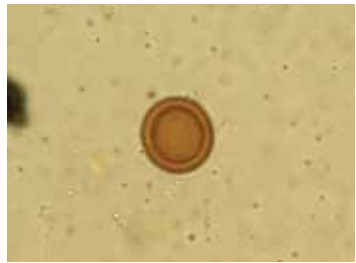
Dicrocoelium dendriticum Lámina 4



Fasciola hepatica Lámina 4



Dipyllobothrium latum Lámina 5



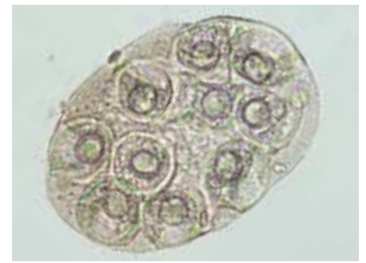
Taenia spp. Lámina 5



Hymenolepis nana Lámina 5



Hymenolepis diminuta Lámina 5

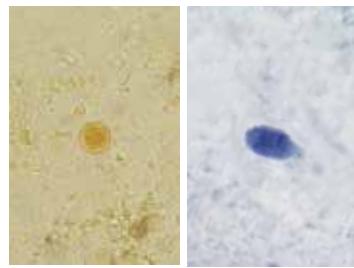


Dipylidium caninum Lámina 5

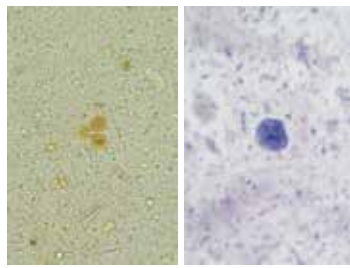
Lámina 12 Protozoos: panorama visual



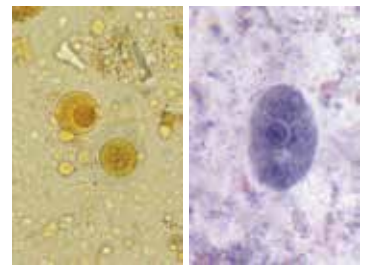
Ascaris lumbricoides Lámina 1



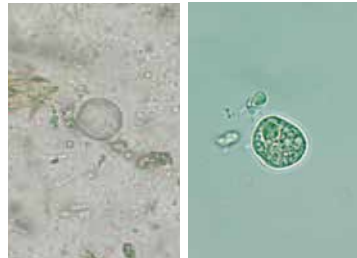
Entamoeba histolytica/E. dispar Lámina 7
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



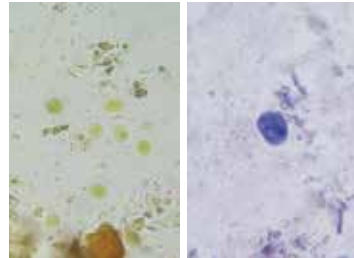
Entamoeba hartmanni Lámina 7
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



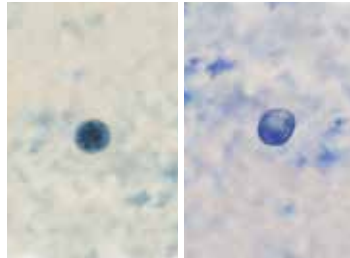
Entamoeba coli Lámina 7
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



Iodamoeba bütschlii Lámina 8
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



Endolimax nana Lámina 8
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



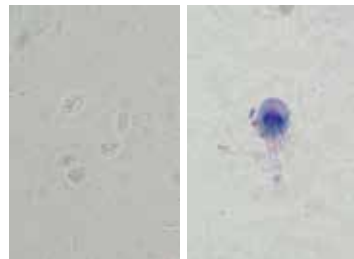
Entamoeba polecki Lámina 8
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



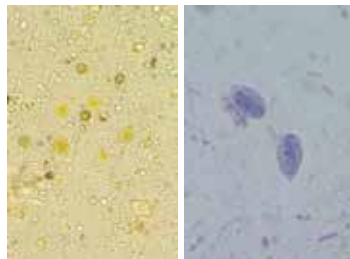
Entamoeba gingivalis Lámina 8
 Trofozoito



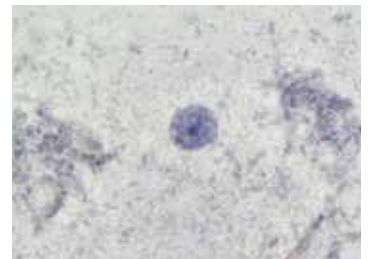
Enteromonas hominis Lámina 8



Giardia duodenalis Lámina 9
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



Chilomastix mesnili Lámina 9
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



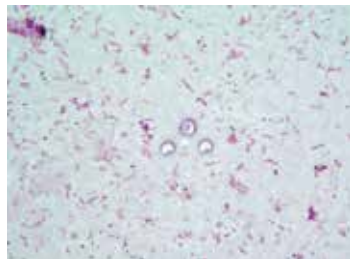
Dientamoeba fragilis Lámina 9
 Trofozoito



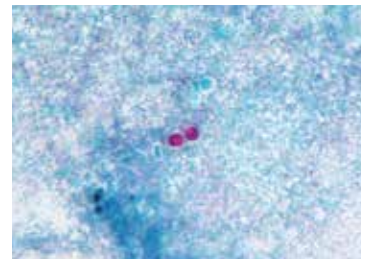
Balantidium coli Lámina 9
 Izquierda: quiste; derecha: trofozoito



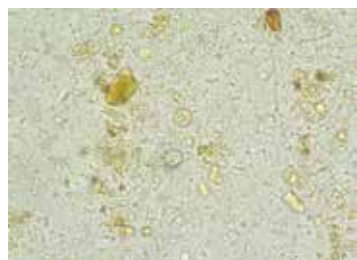
Cyclospora cayetanensis Lámina 10
 Ooquistes no esporulados



Cryptosporidium spp. Lámina 10



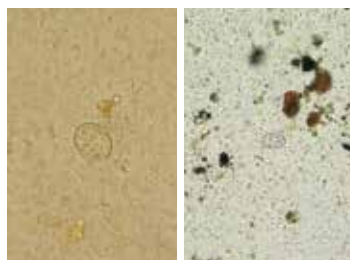
Cryptosporidium spp. Lámina 10



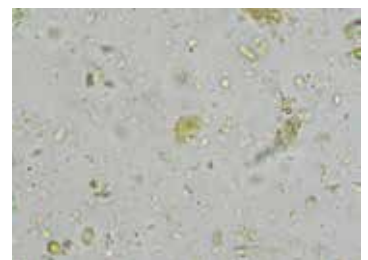
Cyclospora cayetanensis Lámina 10
 Ooquistes no esporulados



Cystoisospora belli Lámina 10
 Ooquistes no esporulados



Sarcocystis spp. Lámina 10
 Izquierda: ooquistes; derecha: esporoquistes



Blastocystis sp. Lámina 10

Medios auxiliares

para el diagnóstico de las
parasitosis intestinales

segunda edición

Estos *Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales* tienen por objeto servir tanto de manual dirigido a los trabajadores de laboratorio y sobre el terreno en países con endemicidad, como de material didáctico para los estudiantes y las personas en formación. En este documento se ofrece orientación para elegir la preparación en los diferentes métodos copromicroscópicos y la técnica de tinción principal para el diagnóstico de los parásitos intestinales (nematodos, trematodos, cestodos y protozoos). Las microfotografías presentan la apariencia y las características diagnósticas de los diferentes parásitos en las diversas preparaciones.

Los medios auxiliares se elaboraron en un formato plastificado impermeable que es sólido y fácil de usar en la mesa de laboratorio. Se recomienda su uso a todos los profesionales de salud que se ocupan del diagnóstico corriente de las parasitosis intestinales.



ISBN 978-92-75-32205-5

