



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

“Implementación de un banco de parásitos intestinales de humanos de importancia clínica con fines didácticos para el Departamento de Ciencias de la Salud”.

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTOR(A): Celi Camacho, Salomé Stephanía

DIRECTOR: Simaluiza Masabanda, Rosa Janneth, Bq. F.

LOJA-ECUADOR

2014

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

Bioquímica Farmacéutica

Rosa Janneth Simaluiza Masabanda

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: **“Implementación de un banco de parásitos intestinales de humanos de importancia clínica con fines didácticos para el Departamento de Ciencias de la Salud”** realizado por Salomé Stephanía Celi Camacho, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, septiembre de 2014

f).....

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Salomé Stephanía Celi Camacho declaro ser autora del presente trabajo de fin de titulación: Implementación de un banco de parásitos intestinales de humanos de importancia clínica con fines didácticos para el Departamento de Ciencias de la Salud, de la titulación de Bioquímica y Farmacia, siendo Rosa Janneth Simaluiza Masabanda directora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f.

Autor: Salomé Stephanía Celi Camacho

C.I: 1105193229

AGRADECIMIENTO

Primero agradecer a Dios por permitirme culminar esta nueva etapa de mi vida con mucha alegría.

Quiero dejar constancia de mi sincero agradecimiento a la Universidad Técnica Particular de Loja, institución que permitió que mi sueño de obtener un título de tercer nivel se haga realidad. A la titulación de Bioquímica y Farmacia por abrirme sus puertas para formarme integral y profesionalmente.

Grandes sentimientos de gratitud y estima a mi Directora de Tesis, Bq.F. Janneth Simaluiza por su colaboración, por impartir con generosidad sus sabios conocimientos en la orientación del presente trabajo, por su paciencia y por su constancia.

A quienes forman parte del Laboratorio de Química, por la colaboración desinteresada durante el desarrollo de la presente investigación y al Dr. Rodrigo Saa. Ph. D. por sus consejos oportunos en la realización de este trabajo.

Al personal de los diferentes laboratorios clínicos de la ciudad de Loja, por las facilidades brindadas en el proceso de ésta investigación.

Y finalmente a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para la realización de mi trabajo, por el apoyo y ánimos brindados, de manera especial a mamá, papá, Liz, Adri, Lili y Anita.

Y aquellas personas que olvido, sepan las tengo presente en mi mente.

La autora

DEDICATORIA

A Dios: por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida; por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a amarte cada día más.

A mis padres: Walter y Ximena, que me dieron la vida y han estado en todo momento, gracias por haberme educado y creer en mí, les agradezco su amor, su comprensión, su paciencia y el apoyo que me brindaron día tras día para culminar otra etapa más de mi vida.

A mi hermana Claudia por su amor, sus consejos y compañía desde siempre y hasta siempre.

A mis papitos queridos: Edgar (+) que desde el cielo está cuidando de mí, siempre estás en mi mente y Aurora, por su cariño, por ser un ejemplo de mujer y por ser el punto de unión de nuestra familia.

A mis sobrinos amados: Ariel y Ariana quienes con su amor desinteresado e inocente han hecho que cada día ame la vida, esto es para ustedes.

A toda mi familia que cada día ha estado apoyándome y dándome ánimos.

A mis amigas de toda la vida quienes multiplican las alegrías y dividen las tristezas.

Con mucho cariño Salomé

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPITULO I.....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
1.1 Parasitosis intestinales.....	7
1.1.1 Giardiosis.....	7
1.1.2 Blastocistosis.....	10
1.2 Amebiasis.....	12
1.3 Amebas no patógenas.....	15
1.3.1 <i>Entamoeba coli</i>	15
1.3.2 <i>Iodamoeba butschlii</i>	15
1.3.3 <i>Endolimax nana</i>	16
1.4 Parasitosis intestinales producidas por helmintos.....	16
1.4.1 Nemátodos.....	16
1.4.2 Céstodos.....	23
1.5 Métodos de diagnóstico parasitológico en heces.....	26
1.5.1 Coprológico directo.....	27
1.5.2 Kato y kato-katz.....	27
1.5.3 Ziehl–Neelsen modificado (Kinyoun).....	27
1.5.4 Métodos de concentración.....	27
1.5.5 Métodos de coloración para protozoarios.....	29

1.5.6	Métodos de coloración para helmintos.....	30
1.5.7	Conservación de parásitos.	30
CAPITULO II		33
MATERIALES Y MÉTODOS		33
2.1	Población de estudio.	34
2.2	Coproparasitario directo.....	34
2.3	Concentración de parásitos intestinales.....	34
2.4	Conservación de parásitos intestinales.....	34
2.5	Fijación de parásitos intestinales.	34
2.6	Coloración de parásitos intestinales.	35
2.7	Preparación de placas permanentes y semi-permanentes.....	35
2.8	Captura de imágenes en alta resolución de parásitos intestinales.	35
2.9	Análisis estadístico.	35
CAPITULO III		36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		36
3.1	Coproparasitario directo.....	37
3.2	Concentración de parásitos intestinales.....	38
3.4	Conservación de parásitos intestinales.....	41
3.5	Fijación de parásitos intestinales.	42
3.6	Tinción de protozoos intestinales con hematoxilina férrica.....	42
3.7	Preparación de placas permanentes y semipermanentes en portaobjetos. ..	43
3.8	Captura de imágenes de parásitos intestinales.....	43
CONCLUSIONES		44
RECOMENDACIONES		45
BIBLIOGRAFÍA		46
ANEXOS		50
	Métodos de diagnóstico.	50
	Métodos de concentración. Método de Ritchie o centrifugación con formol-éter	51

Métodos de concentración. Método de Faust o de flotación con sulfato de Zinc	52
Métodos de conservación. Conservadores.....	53
Métodos de fijación. Fijadores.....	55
Métodos de coloración. Técnica de tinción tricrómica.....	56
Métodos de coloración. Técnica con hematoxilina férrica de Heidenhain	58
Montaje de placas. Preparaciones selladas en porta-objetos	60
Atlas de parasitología.....	61
Anexos fotográficos del banco de parásitos	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°1 Clasificación de protozoos y helmintos intestinales	6
Tabla N°2 Prevalencia de parásitos intestinales en los hospitales de la ciudad de Loja 37	
Tabla N°3 Muestras analizadas por el método de Ritchie y el método de Faust	39
Tabla N°4 Porcentaje de recuperación de parásitos intestinales.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de prevalencia de parásitos intestinales.....	38
Figura 2. Número de muestras analizadas por el método de Ritchie y de Faust.....	39
Figura 3 Porcentaje de recuperación de los parásitos intestinales	40

RESUMEN

En Ecuador las parasitosis intestinales son un problema de Salud Pública que afectan a un 80% de la población en el área rural y un 40% a la población urbana. Por la dificultad de conseguir muestras parasitológicas que permitan ser material de enseñanza docente para la cátedra de Parasitología, se implementó un banco de parásitos intestinales de importancia clínica en la ciudad de Loja. Se recolectaron 730 muestras fecales, de las cuales 360 resultaron positivas. A las muestras se les aplicó protocolos de: concentración, conservación, fijación, coloración y posteriormente se realizó la preparación de placas. En la concentración, el método de Ritchie resultó efectivo para quistes de protozoos y larvas de *S. stercoralis*; mientras que el método de Faust para huevos de *Hymenolepis nana*. En la conservación, formol al 10% y merthiolate-yodo-formol dieron mejores resultados, excepto en quistes de *Blastocystis hominis* y *Iodamoeba butschlii*. Entre los fijadores utilizados el fijador de Schaudinn resultó ser el más efectivo.

Por lo tanto el estudio de los parásitos intestinales es relevante para el componente académico de Parasitología, ya que constituye una herramienta esencial para docentes y alumnos.

Palabras clave: parásitos intestinales, concentración, fijación, conservación.

ABSTRACT

In Ecuador, intestinal parasitic infections are a public health problem. It affects an 80% of the population in the rural area and also it affects an 40% in the urban area. Because of the difficulty to get parasitological samples which allowing to be teaching material for the chair of Parasitology, was implemented a bank of intestinal parasitic with clinical importance in Loja City. 730 fecal samples was collected, of which 360 were positive. To the samples, was apply protocols of: concentration, preservation, fixation, staining and subsequently was performed the preparation of plates. In the concentration, Ritchie's method proved effective for cysts of protozoa and larvae of *S. stercoralis*. While the Faust's method to *Hymenolepis nana* eggs. In conservation, formol on 10% and merthiolate-iodine-formalin gave the best results, except in cysts of *Blastocystis hominis* and *Iodamoeba butschlii*. Between the fixatives used, Schaudinn's fixative out to be the most effective. Therefore, the study of intestinal parasites is relevant to the academic component of Parasitology. Since, they constitute an essential tool for teachers and students.

Keywords: intestinal parasites, concentration, fixing conservation.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), señala que las parasitosis intestinales son una de las principales causas de morbilidad, estrechamente ligadas a la pobreza, la inadecuada higiene personal, ingesta de alimentos crudos, falta de servicios sanitarios, de provisión de agua potable y contaminación fecal del ambiente. Infecta a personas de todas las edades, pero la sufren principalmente los niños, a quienes les causa trastornos en el crecimiento y desarrollo (OMS, 2011).

Según publicaciones de la OMS, más de la quinta parte de la población mundial está infectada por uno o varios parásitos intestinales y en muchos países de América Central y Sudamérica el promedio de infecciones parasitarias intestinales es del 45% (Jiménez, 2011). Se estima en 1200 millones las personas infectadas por *Ascaris lumbricoides*, 500 millones con *Trichuris trichiura*, 500 millones con *Entamoeba histolytica* y 200 millones con *Giardia lamblia* (Popper, 2011).

La incidencia de parasitosis intestinales en Latinoamérica es elevada, afectan aproximadamente al 50% de la población, especialmente en países donde prevalecen las áreas marginales o rurales, y en las zonas urbanas deprimidas social y económicamente (Alcívar et al, 2010).

En Ecuador las parasitosis intestinales son un problema de Salud Pública, con caracteres endémicos, que afectan a un 80% de la población en el área rural y un 40% de la población en el área urbano-marginal y son responsables de complicaciones como desnutrición, anemia, bajo rendimiento escolar, entre otros (Ministerio de Salud Pública, 2012).

Entre los métodos de diagnóstico de parásitos intestinales más utilizados tenemos: coprológico directo, examen macroscópico por tamizado, concentración, fijación, coloración, diagnóstico molecular, etc.

Debido a la importancia de las parasitosis intestinales a nivel mundial, nacional y local, a la dificultad que conlleva el conseguir muestras parasitadas que permitan ser la herramienta de enseñanza docente y por ende de aprendizaje de los profesionales en formación de las titulaciones de Bioquímica y Farmacia y Medicina de la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), este trabajo tiene como objetivo general implementar un banco de parásitos intestinales de humanos de importancia clínica. A nivel docente el banco de parásitos será una herramienta didáctica de la materia de Parasitología de las titulaciones antes

mencionadas, la cual facilitará la enseñanza de los alumnos asegurando la presencia de un set de parásitos intestinales, mientras que a nivel de los estudiantes permitirá desarrollar las competencias prácticas del componente ya mencionado; ya que les ayudará a conocer las características morfológicas y fisiológicas de los diferentes parásitos almacenados, adquiriendo destrezas en su identificación acordes al ejercicio profesional de cada alumno.

La creación del banco de parásitos empleará protocolos de concentración, conservación, fijación, coloración y preparación de placas, así como también la creación de un álbum fotográfico de parásitos intestinales más prevalentes de la ciudad de Loja.

Posteriormente se irá incrementando el banco de parásitos intestinales en futuros trabajos de investigación, ya que no es posible que se lo complete totalmente con el presente.

CAPITULO I
MARCO TEÓRICO

Desde el punto de vista etiológico las parasitosis intestinales son infecciones producidas por parásitos cuyo hábitat natural es el aparato digestivo del hombre. Estas infecciones abarcan las parasitaciones del tubo digestivo producidas por protozoos y por helmintos, ya sean nemátodos, tremátodos o céstodos (Romero y López, 2010).

Todos los protozoos intestinales patógenos, tienen una distribución mundial y la mayoría de los helmintos se han asociado a países tropicales o en vías de desarrollo (Cervantes y Quishpe, 2009). El auge de los viajes a otros continentes, el aumento progresivo de la inmigración, ha aumentado el riesgo de aparición de parasitosis intestinales en los países desarrollados. En la actualidad las parasitosis intestinales son la afección más frecuente en niños inmigrantes y adoptados (25-75%) cuya frecuencia de parasitación es múltiple (Romero y López, 2010). Los parásitos se clasifican en protozoos y helmintos intestinales como lo podemos ver en la Tabla N°1.

Tabla N°1 Clasificación de protozoos y helmintos intestinales

	Protozoos intestinales
Amebas	<i>Entamoeba histolytica, Entamoeba coli, Entamoeba gingivalis, Endolimax nana, Iodamoeba butschlii</i>
Flagelados	<i>Giardia lamblia, Chilomastix mesnilli</i>
Coccidios	<i>Cystoisospora belli, Cryptosporidium</i>
Ciliados	<i>Balantidium coli</i>
Otros protozoos	<i>Blastocystis hominis</i>
	Helmintos intestinales
Nemátodos	<i>Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura, Necator americanus, Strongyloides stercoralis</i>
Tremátodos	<i>Fasciola hepatica, Fasciolopsis buski</i>
Céstodos	<i>Taenia solium, Taenia saginata, Hymenolepis nana, Hymenolepis diminuta</i>

Fuente: Cervantes y Quishpe, 2009

1.1 Parasitosis intestinales.

1.1.1 Giardiosis.

Es la parasitosis más común en el mundo, sobre todo en climas templados, especialmente en niños de guarderías y orfanatos, alcanzando la máxima prevalencia entre los 2 y los 6 años de edad. Es producida por el protozoo flagelado *G. lamblia* (Botero y Restrepo, 2008).

Agente etiológico:

Trofozoíto.- Los trofozoítos de *G. lamblia* presentan forma de gota o lágrima con simetría bilateral, el extremo anterior es ancho y redondeado, el extremo posterior termina en punta. Mide de 12 a 14 μ de largo por 7 a 9 μ de ancho y 1 a 2 μ de espesor. Posee una cavidad o ventosa que ocupa la mitad anterior de su cuerpo, la cual utiliza para fijarse a la mucosa intestinal. Posee en su diámetro longitudinal y en la parte central, una barra doble o axostilo de cuyo extremo anterior emergen 4 pares de flagelos, uno anterior, dos laterales y otro posterior. En su membrana citoplasmática se han detectado un gran número de glicoproteínas de superficie mediante lectinas (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

Quiste.- La forma quística se caracteriza por ser una estructura incolora que se tiñe con lugol parasitológico de color amarillo. El quiste es ovalado y mide de 8 a 12 μ en su diámetro mayor y 8 μ como promedio el menor. El quiste es circundado por una doble pared quística hialina que le confiere capacidad de resistencia al medio ambiente (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

En preparaciones teñidas se aprecia en el interior del quiste un citoplasma granular en el que se observan inmersos varios núcleos que van en número de 2 a 4, dicho número dependerá del grado de madurez quística, los quistes inmaduros poseen 2 núcleos, mientras que los maduros tienen 4 en su interior. Además, pueden verse flagelos retraídos situados a los lados de los núcleos y axonemas longitudinalmente dispuestos al diámetro mayor del quiste (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

Mediante microscopía electrónica puede observarse que el quiste se encuentra circundado por una pared quística de cerca de 0.3 μ , estrechamente adherida a la membrana del parásito. Los núcleos están rodeados por una típica membrana nuclear y en el interior del mismo un nucleoplasma con una masa granular que representa al nucléolo, cercana al área

nuclear se observan axonemas de flagelos, de manera habitual en número de ocho. Además, es posible ver dos láminas de microtúbulos que tal vez representan los axostilos. Los quistes carecen de mitocondrias, retículo endoplásmico, aparato de Golgi y lisosomas (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

Ciclo de vida:

Los trofozoítos viven en las criptas glandulares y submucosa de duodeno y yeyuno proximal allí se multiplican por división binaria, mientras que los quistes se forman en intestino delgado y se excretan por las heces. Pueden permanecer viables en el suelo húmedo o en el agua por varios meses.

Los quistes infectan por vía oral y después de ingeridos resisten a la acción del jugo gástrico y se rompen en el intestino delgado para dar origen a 4 trofozoítos. La infección se da persona a persona, pero se ha comprobado que algunos animales como: perros, gatos, castores y rumiantes, pueden ser reservorios de *G. Lamblia* y por consiguiente dan origen a infección en humanos, en cuyo caso esta parasitosis se puede considerar como una zoonosis (Botero y Restrepo, 2008).

Patogenia:

Tras un período de incubación de unos 5 días se inicia el cuadro clínico, existiendo tres posibles evoluciones: portador asintomático, gastroenteritis autolimitada o cuadro crónico de malabsorción.

El mecanismo de acción de los parásitos es sobre la mucosa del intestino delgado, principalmente en el duodeno y yeyuno. Esta acción se da a través de la fijación de los trofozoítos, la cual da origen a una inflamación catarral. La patología se encuentra en infecciones masivas, en cuyo caso la barrera mecánica creada por los parásitos y la inflamación intestinal, pueden llegar a producir un síndrome de mala absorción. En estos casos las vellosidades intestinales se encuentran atrofiadas, hay inflamación de la lámina propia y alteraciones morfológicas de las células epiteliales. Algunos casos de giardiasis graves se han asociado con la presencia de hiperplasia nodular linfoide en intestino delgado y grueso (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

Para el diagnóstico en materia fecal formada, los métodos coproparasitológicos de concentración son utilizados para la búsqueda de formas quísticas, dando los mejores resultados para este fin los métodos de flotación de Faust y el de sedimentación de Ritchie. Con este tipo de exámenes se diagnostican la mayor parte de casos; sin embargo, hay que tener en cuenta que sólo se diagnostican 8 a 9 de cada 10 casos en estudios realizados en 3 muestras seriadas de materia fecal. Lo anterior se ha atribuido a la intermitencia en la eliminación quística, eliminación que puede ser intensa, baja o mixta (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

Debido a la intermitencia de expulsión de trofozoitos y quistes en heces, se hace necesario recurrir a otros métodos como la observación directa del protozoo en aspirado de líquido duodenal observado al microscopio. La cápsula duodenal de Beal es una variante para la obtención de líquido duodenal; es una cápsula de gelatina de 2 ceros unida a un hilo de nylon de 90 cm, en su interior tiene un hilo de algodón trenzado, en la porción proximal de éste se encuentra unido un pedazo de plomo recubierto de silicones que sirve como marca radiológica (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

También existen equipos como la cápsula pediátrica de Crosby-Kugler-Watson, que por medio de succión externa obtiene la muestra. Esta técnica obtiene un material semejante al del sondeo duodenal por aspiración a lo largo de la sonda, que en su porción distal se encuentra conectada a la cápsula metálica que, a su vez, contiene una cuchilla de biopsia. Con este método pueden observarse, asimismo, los cambios morfológicos de la mucosa intestinal, además de confirmarse el diagnóstico mediante la demostración del parásito (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

En algunas circunstancias, aun con un diagnóstico epidemiológico y clínico, los métodos de laboratorio no confirman todos los casos, lo que puede ser debido a que tal vez los métodos diagnósticos actuales no son lo suficientemente sensibles para detectar infecciones muy leves. En estas circunstancias se puede recurrir a métodos más sensibles como la detección de antígeno de *Giardia* (GSA65) en heces (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

La detección del antígeno GSA65 es mucho más sensible que los métodos coproparasitológicos, con una sensibilidad del 98% y una especificidad cercana al 100%,

sin embargo, no es un sustituto del examen de materia fecal para la búsqueda de parásitos, ya que sobre todo en países en vías de desarrollo es muy común la presencia de parasitosis mixtas como causa de la sintomatología (Vázquez Tsuji y Campos, 2009).

1.1.2 Blastocistosis.

Desde el siglo pasado se describió *B. hominis*, como un microorganismo de taxonomía muy imprecisa, muy frecuente en animales y en el hombre con prevalencia del 2% al 40%, tanto en zonas tropicales como no tropicales. Puede estar asociado con una enfermedad diarreica en humanos y animales, aunque algunos autores niegan su capacidad patógena (Reyes y Chinchilla, 2008).

Agente etiológico:

Al microscopio el *B. hominis* se observa de forma esférica, tamaño variable entre 4 y 15 μ , con una gran vacuola retráctil dentro de una delgada capa de citoplasma. Tienen uno o cuatro núcleos, mitocondrias y otras organelas, conocidas en uno o varios sitios entre la parte externa de la vacuola y la membrana del parásito, estas formas son comunes en materias fecales. *B. hominis* presenta tres estadios bien diferenciados (Reyes y Chinchilla, 2008).

- a. **Forma vacuolada.-** Este estadio es el que se identifica con mayor facilidad en las muestras de heces y con el que normalmente se realiza el diagnóstico. Presenta un tamaño aproximado de 8-10 μ de diámetro; se reproduce por fisión binaria y se caracteriza por poseer un corpúsculo central grande que comprime el núcleo y citoplasma celular. El contenido de este corpúsculo no tiñe con coloraciones especiales para lípidos, almidones, celulosa o glucógeno (Reyes y Chinchilla, 2008).
- b. **Forma ameboide.-** Es menos frecuente que la forma vacuolada, no presenta corpúsculo central, pero si varios pseudópodos de movimiento muy lento que dan la impresión de que el microorganismo no se desplaza. Estas formas son muy frecuentes en los cultivos viejos del protozario (Reyes y Chinchilla, 2008).
- c. **Forma granular.-** A esta forma raramente se la encuentra en heces; sin embargo, tres tipos de gránulos han sido diferenciados: gránulos metabólicos, reproductivos y lípidos (Reyes y Chinchilla, 2008).

Ciclo de vida:

El quiste se define como la forma parasitaria infectante, el ciclo comienza tras la ingestión de éste, que al haberse desarrollado bajo la envuelta se liberará de ella; se desenquista probablemente inducido por los ácidos presentes en el estómago, transformándose en la forma vacuolar, sin envoltura, que encontraremos en el intestino. A partir de esta forma, el parásito podrá evolucionar en formas distintas, dando lugar a dos ciclos:

- a. Autoinfección.-** La forma vacuolar cambia a lo largo del tránsito hasta su forma multivacuolar, la cual dará lugar a un prequiste que madurará (esquizogonia) y dará lugar a un quiste de pared delgada y frágil, por lo que se romperá en el intestino del individuo infectado antes de ser expulsado (Romero, 2007).
- b. Ciclo infeccioso.-** En éste ciclo participaría la forma ameboide que se cree que proviene de la forma vacuolar, siguiendo un ciclo que daría lugar a prequistes, que tras la esquizogonia, evolucionarían a quistes de gruesa cubierta que serían expulsados al exterior junto a las heces del individuo infectado, se produciría la esquizogonia en el medio ambiente probablemente y podría producir otra infección en un nuevo individuo sano (Romero, 2007).

Patogenia:

Estudios recientes agrupan los individuos infectados en varias categorías:

- Portadores asintomáticos.
- Pacientes con gastroenteritis aguda, con desaparición de los síntomas en menos de dos semanas.
- Pacientes con gastroenteritis crónica, con síntomas presentes durante dos o más semanas y que desaparecen espontáneamente.
- Portadores después de una diarrea, en quienes hay persistencia del parásito después de una resolución espontánea de los síntomas.
- Persistencia de blastocistosis con síntomas de tipo crónico o intermitente y permanente presencia del protozoo (Botero y Restrepo, 2008).

Los síntomas entéricos atribuidos a este organismo son diarrea, dolor abdominal, náuseas y retortijones. También se ha descrito anorexia, flatulencia y en algunos casos vómito, pérdida de peso, prurito y tenesmo. Algunas publicaciones le atribuyen mayor capacidad patógena en pacientes inmunosuprimidos y en casos de SIDA (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

El diagnóstico se establece a través del análisis en microscopio de luz de muestras de heces disueltas en solución salina o luego de la adición de alguna tinción.

Microscopía.- La identificación microscópica puede ser complicada por la variedad de formas con las que el organismo aparece en muestras fecales, la dificultad para hallar el organismo en la disolución en agua, y la destrucción del organismo con las técnicas de concentración habituales. El método predilecto para el diagnóstico microscópico es una tinción permanente de una muestra de heces no concentrada con hematoxilina o tinción tricrómica. Los leucocitos fecales no son usualmente hallados y la endoscopia usualmente muestra una mucosa macroscópicamente normal y en la histopatología generalmente no se ha demostrado la infección. Exámenes recientemente desarrollados para el diagnóstico de infección por *Blastocystis sp* son el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para la detección de anticuerpos séricos y la reacción en cadena de polimerasa (PCR), técnicas que actualmente son usadas en investigación (Salinas y Vildozola, 2007).

1.2 Amebiasis.

Constituye la tercera causa mundial de muerte por enfermedad parasitaria.

Agente etiológico:

Queda establecido que la especie *E. histolytica* es la que tiene la capacidad de invadir tejidos y producir enfermedad, mientras que la especie *E. dispar* no es patógeno. El examen microscópico de las materias fecales no permite diferenciar estas dos especies (Botero y Restrepo, 2008).

E. histolytica/E. dispar poseen las características nucleares del género *Entamoeba*, que son: cariosoma compacto, pequeño y cromatina distribuida por la parte interna de la membrana nuclear. Las especies *histolytica/dispar* se reconocen por tener el cariosoma en el centro del núcleo y la cromatina en gránulos de tamaño uniforme y regularmente dispuestos (Botero y Restrepo, 2008).

El trofozoíto o forma vegetativa mide de 20 a 40 μ de diámetro; cuando está móvil, emite un pseudópodo amplio, hialino y transparente que se proyecta como un saco hernario hacia el exterior de la célula. Los trofozoítos (*E. histolytica*) generalmente contienen eritrocitos en su citoplasma. La forma no invasiva (*E. dispar*) no tiene eritrocitos fagocitados pero presenta igual morfología. La forma de transición o prequiste, es un organismo redondeado u ovoide, de 10 a 20 μ de diámetro, inmóvil, con una membrana quística en vía de formación, sin inclusiones citoplasmáticas, pero ocasionalmente con cuerpos cromatoidales y vacuola de glicógeno (Botero y Restrepo, 2008).

La infección se produce al ingerir quistes del parásito, que miden 10 a 18 μ es redondeado y contienen cuatro núcleos. Los quistes son resistentes a las bajas temperaturas, a la cloración de las aguas y a los ácidos gástricos y enzimas digestivas, de forma que tras la ingesta llegan al intestino delgado donde cada quiste da lugar a ocho trofozoítos, con un diámetro medio de 25 μ y dotados de un solo núcleo (Botero y Restrepo, 2008).

Ciclo de vida:

El ciclo de vida se inicia con la ingestión de un quiste infectante. Gracias a su dura cubierta no es dañado, aunque si reblandecido, por la acción de los jugos gástrico y pancreático, lo cual permite su exquistación en el intestino grueso, donde puede desarrollar infección invasora o no hacerlo. Al romperse el quiste, el trofozoíto termina su proceso de división y da lugar a cuatro trofozoítos metaquísticos. Si el trofozoíto continúa avanzando por el colon, inicia su proceso de enquistación con la formación de un prequiste mononuclear, donde se inicia un proceso de división celular que da lugar a un quiste tetranuclear, terminando el proceso con la formación de la pared del este, el cual es expulsado con la materia fecal. Este quiste es muy resistente, sobre todo en climas húmedos, y puede infectar si es ingerido (Gómez et al, 2007).

Patogenia:

En el 90% de los casos la amebiasis no da sintomatología (estado de portador asintomático), pero en el 10% restante la clínica es de amebiasis sintomática invasiva que puede adoptar 3 formas. La más frecuente (90%) es la colitis amebiana crónica no disintérica, seguida por la colitis amebiana aguda disintérica (10%) que es un cuadro grave de diarrea mucopurulenta, con pujos y tenesmo rectal pero sin fiebre. En casos

excepcionales las amebas invaden el torrente sanguíneo, dando lugar al cuadro clínico conocido como amebiasis invasiva extraintestinal con abscesos a distancia (hígado, pulmón, sistema nervioso central, etc.), peritonitis, lesiones cutáneas y genitales (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

La amebiasis debe investigarse en todo paciente con disentería. En las heces recién emitidas se buscan los trofozoítos móviles conteniendo hematíes fagocitados, de encontrarlos no es necesario realizar otros estudios para diagnosticar la *E. histolytica*. Si no existe la posibilidad de examinar la muestra rápidamente, esta debe ser fijada en alcohol polivinílico para conservar los trofozoítos. Un extendido de materia fecal teñido con hematoxilina férrica o con colorante tricrómico permitirá estudiar las características del núcleo de los trofozoítos para no confundirlos con leucocitos o con *E. coli*, pero excepto que se vean eritrocitos fagocitados, las coloraciones no podrán diferenciar la *E. histolytica* de la *E. dispar* (Beltamirano, 2011).

En los casos menos severos pueden hallarse además de trofozoítos, prequistes y leucocitos. En las deposiciones sanguinolentas de las amebiasis severas sólo se encuentran trofozoítos. Las muestras fecales conservadas con formol (parasitológicos seriados) sólo sirven para la pesquisa de quistes. El material teñido con lugol permite una mejor visualización de los mismos. Cuando el diagnóstico se realiza con el microscopio óptico los quistes de ambas especies son indistinguibles y deben ser informados como: *E. histolytica* /*dispar*. En una endoscopia la rectocolitis amebiana se presenta con zonas de hemorragias puntiforme o pequeñas úlceras, en ellas se buscan los trofozoítos a través del raspado o la biopsia de las lesiones. En individuos sintomáticos, la presencia de anticuerpos específicos con títulos séricos altos (IFI, HAI) se correlaciona con amebiasis invasiva. Las pruebas séricas son las elegidas para el estudio de pacientes en los que se sospeche un absceso hepático amebiano. Actualmente se ha desarrollado un test de ELISA basado en anticuerpos monoclonales que permite detectar coproantígenos específicos para *E. Histolytica* (Beltamirano, 2011).

La diferenciación de especies por PCR también es una herramienta necesaria y de gran valor para el diagnóstico de la amebiasis, pues le permite al clínico discriminar las

verdaderas infecciones por *E. histolytica* y evitar los tratamientos innecesarios cuando *E. dispar* está presente (Rivero et al, 2009).

1.3 Amebas no patógenas.

1.3.1 *Entamoeba coli*:

El trofozoíto mide de 20 a 30 μ , posee endoplasma con gránulos gruesos, vacuolas y bacterias, pero sin eritrocitos. El ectoplasma da origen a pseudópodos romos que aparecen simultáneamente en varias partes de la célula y le imprimen movimiento lento, muy limitado y sin dirección definida. El núcleo presenta un cariosoma grande y excéntrico, cromatina alrededor de la membrana nuclear dispuesta en masas grandes e irregulares, El prequiste es de tamaño similar al del trofozoíto, redondeado, sin las inclusiones antes mencionadas, con 1 a 2 núcleos y a veces una vacuola iodófila. El quiste redondeado o ligeramente ovoide, de 15 a 30 μ , tiene de 1-8 núcleos cuando está maduro, éstos tienen las mismas características morfológicas descritas para el trofozoíto. Al colorearlos se puede observar en algunos quistes los cuerpos cromatoidales delgados en forma de astilla, estos son más frecuentes en los quistes inmaduros, en los cuales se puede también ver una vacuola de glucógeno que se colorea de lugol. Los quistes se encuentran al examen coprológico con mucha mayor frecuencia que los trofozoítos (Botero y Restrepo, 2008).

1.3.2 *Iodamoeba butschlii*:

El trofozoíto mide de 8 a 20 μ , los pseudópodos emergen lentamente pueden ser romos o en forma de dedo y le imprimen un movimiento muy lento. El endoplasma contiene bacterias y vacuolas, es notoria una gran vacuola de glicógeno que toma color café con el lugol y que sin coloración se observa como un espacio más claro. El núcleo generalmente no se observa en las preparaciones en fresco, cuando se colorea presenta un cariosoma central rodeado de gránulos y con fibrillas hacia la membrana nuclear, en la cual no se encuentra cromatina. El quiste mide de 5 a 14 μ , algunas veces de forma irregular y tiene un sólo núcleo grande con cariosoma excéntrico y gránulos en un solo lado, en forma de medialuna. Se le observa vacuola iodófila, lo cual hace fácil la identificación (Botero y Restrepo, 2008).

1.3.3 *Endolimax nana*:

El trofozoíto mide entre 6 y 15 μ , el endoplasma presenta vacuolas, bacterias y restos vegetales. Los pseudópodos son pequeños y aparecen simultáneamente y en forma brusca. Su desplazamiento es muy limitado. El núcleo presenta un cariosoma grande, que puede verse aun en preparaciones sin colorear. La cromatina de la membrana nuclear no existe o es muy pequeña. El quiste mide de 5 a 10 μ , puede ser redondo u ovalado y presenta, cuando está maduro, 4 núcleos que se observan como puntos brillantes (Botero y Restrepo, 2008).

1.4 Parasitosis intestinales producidas por helmintos.

1.4.1 Nemátodos.

Los nemátodos parásitos del hombre son gusanos alargados de forma cilíndrica, bilateralmente simétricos y con los extremos de menor diámetro. Se reproducen por medio de huevos que dan origen a larvas. A este grupo de parasitosis se les denomina geohelmintiasis, las principales son: Ascariosis, trichuriasis, uncinariosis y estrombiloidosis (Botero y Restrepo, 2008).

1.4.1.1 Ascariosis

Esta parasitosis es la más frecuente y cosmopolita de todas las helmintiasis humanas. El parasitismo intenso afectado por esta especie contribuye a la desnutrición en los niños y puede producir complicaciones intestinales graves dentro o fuera del intestino.

Agente etiológico:

A. lumbricoides es el nemátodo intestinal de mayor tamaño; en su estado adulto la hembra mide de 20 a 30 cm de longitud y 3 a 6 mm de diámetro, el macho de 15 a 20 cm de largo y 2 a 4 mm de diámetro. Son de color rosado o blanco amarilloso y los sexos se pueden diferenciar macroscópicamente por la forma del extremo posterior, que en la hembra es recto, mientras que en el macho presenta una curva en la cual existen 2 espículas quitinosas y retráctiles que le sirven para la copulación. El aparato digestivo está constituido por la boca situada al extremo anterior rodeada por 3 labios prominentes, por un corto

esófago y por el intestino, el cual se observa aplanado y de color verdoso, que desemboca en el ano. Los adultos no tienen órganos de fijación y viven en la luz del intestino delgado sostenidos contra las paredes debido a su musculatura, lo que les evita ser arrastrados por el peristaltismo intestinal. La vida promedio de los parásitos adultos es de solamente un año, al cabo mueren y son eliminados espontáneamente. Existe, por lo tanto, curación espontánea, siempre que los pacientes no se reinfecten del medio externo, pues no existe posibilidad de reproducción dentro del intestino, ya que las infecciones se hacen a partir de huevos que han larvado en el medio ambiente, y que provienen de las materias fecales de las personas infectadas (Álvarez et al, 2011).

Los huevos fértiles, provienen de las hembras fecundadas, tienen forma oval o redondeada y miden aproximadamente 60 μ de diámetro mayor. Tienen tres membranas, una externa mamelonada y 2 internas lisas, inmediatamente debajo de la anterior. Estos huevos al ser examinados en las materias fecales se observan de color café por estar coloreados por la bilis y en su interior presentan un material granuloso que posteriormente dará origen a las larvas. Los huevos infértiles provienen de las hembras no fecundadas, son más irregulares, alargados, con protuberancias externas grandes o ausentes y generalmente con una sola membrana. Estos huevos no son infectantes pero tienen importancia en el diagnóstico epidemiológico, ya que indican presencia de *Ascaris* en el intestino (Botero y Restrepo, 2008).

Ciclo de vida:

Ascaris es transmitido por la ingestión de huevos. Estos huevos que presentan una larva infectante en su interior eclosionan, las larvas penetran a través del intestino y migran a través de los vasos sanguíneos vía porta hasta el hígado y los pulmones donde son expulsados por la tos o deglutidos, un proceso que dura varias semanas. Después del regreso de las larvas al intestino, maduran para dar paso a gusanos adultos, machos y hembras (Scott, 2008).

La fase migratoria es responsable de las reacciones inflamatorias y de hipersensibilidad en los pulmones, incluyendo neumonía y eosinofilia pulmonar (Síndrome de Loeffler). Entre la patología inducida por los gusanos adultos destacan manifestaciones de malabsorción, obstrucción intestinal e invasión del conducto biliar o del apéndice, dando lugar a pancreatitis aguda y apendicitis. La presencia de *Ascaris* también se ha asociado al

menoscabo de la función cognitiva. Aunque gran parte de las pruebas iniciales son bastante débiles. Ezeamana, et al. hallaron que los niños con infección por *Ascaris* de intensidad moderada y alta, presentaban respuestas más bajas en las pruebas cognitivas de memoria en comparación con niños no infectados, después de ajustar con respecto al estado nutricional, los indicadores socioeconómicos y otras infecciones helmínticas. El periodo desde la ingestión de los huevos hasta su detección en las deposiciones fluctúa entre 10 y 11 semanas, y los gusanos adultos viven un año. Durante este tiempo, los adultos se aparean y los huevos de *Ascaris* son eliminados con las heces (Scott, 2008).

Las estimaciones de fecundidad varían considerablemente entre regiones geográficas, fluctuando desde 10 hasta 220 huevos por gusano hembra por gramo de heces. Si las condiciones ambientales son favorables se ha descrito que sobreviven durante periodos de hasta 15 años. Son también muy adherentes y se acoplan fácilmente a frutas, verduras, partículas de tierra y polvo, juguetes de niños, billetes, moscas y cucarachas (Scott, 2008).

Patogenia:

Los parásitos adultos en el intestino delgado causan irritación de la mucosa debido al movimiento y a la presión que hacen por su gran tamaño. Cuando existen en abundante cantidad se entrelazan formando nudos que llegan a alcanzar tamaño suficiente para producir obstrucción del intestino, especialmente en niños. La patología de mayor gravedad se presenta en las migraciones de *Ascaris* adultos a diferentes sitios del organismo. Las más frecuentes suceden hacia las vías biliares. La forma más simple es la invasión al colédoco con obstrucción biliar. Esta forma puede ser transitoria, cuando el parásito se retira espontáneamente, o puede ser origen de una infección bacteriana secundaria, irritación mecánica y obstrucción, lo cual constituye un cuadro de colangitis, que puede ser supurativa con producción de abscesos. Cuando la hembra penetra más profundamente a las vías biliares y deposita allí los huevos que alcanzan el parénquima hepático, producen granulomas de cuerpo extraño (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

Depende de la identificación de los nemátodos adultos eliminados por el recto u otros orificios corporales y el hallazgo de huevos en exámenes fecales: Coproparasitoscópicos de

concentración, de preferencia cuantitativos, aunque puede realizarse observaciones en fresco (Uribarren, 2014).

En la obstrucción intestinal, es posible palpar la(s) masa(s) de parásitos. En cambio, es difícil realizar el diagnóstico parasitoscópico durante la fase migratoria de *Ascaris*. El hallazgo de larvas en esputo o contenido gástrico es fortuito. En esta etapa del ciclo es frecuente encontrar eosinofilia del 30% - 50%, conteo que disminuye o desaparece cuando las formas adultas de nemátodo se desarrollan. Cuando existe migración errática de adultos hepatoiliar o pancreática, pulmonar, se requieren pruebas funcionales y estudios radiológicos (Uribarren, 2014).

1.4.1.2 Trichuriasis.

Presenta amplia distribución geográfica, aunque predomina en zonas cálidas y húmedas de los países tropicales. El agente etiológico se localiza en el colon, en donde causa patología de intensidad variable, de acuerdo al número de parásitos y a las condiciones del huésped (Carrada, 2004).

Agente etiológico:

T. trichiura es un gusano blanco de aproximadamente 3 a 5 cm de longitud. Se caracteriza por tener forma de látigo, diferenciado en dos regiones: la región esofágica, muy fina, con la que se adhieren a la mucosa intestinal, y la posterior, más dilatada, donde se encuentran el intestino y los órganos sexuales. Los huevos, presentan una forma característica de limón y un tamaño aproximado de 54 μ de largo por 22 μ de ancho, presentan una gruesa cubierta con dos tapones polares y, en el momento de ser eliminados, una célula huevo (López, 2009).

Ciclo de vida:

Los huevos sin embrionar salen al exterior con las materias fecales del hombre. Cuando caen en la tierra húmeda con temperatura adecuada, desarrollan una larva en su interior en un período de dos semanas a varios meses, para convertirse en adultos (Carrada, 2004).

La infección es por vía oral, lo cual sucede al ingerir huevos larvados; éstos llegan a la boca a través de alimentos y aguas contaminadas. En el interior del aparato digestivo los huevos sufren ablandamiento de sus membranas y se liberan larvas en el intestino delgado, las que penetran las glándulas de Lieberkhun, en donde tienen un corto período de desarrollo y luego pasan al colon, en el cual maduran y viven aproximadamente 7 años. Los gusanos macho y hembra se enclavan por su parte delgada en la mucosa del intestino grueso donde producen el cuadro clínico. Esta penetración la hacen ayudados por una lanceta retráctil, que le permite profundizar hasta quedar fuertemente clavados. Después de copular, la hembra produce huevos fértiles que salen con las materias fecales para reanudar el ciclo. Se calcula que después de ingerir huevos larvados se tienen parásitos adultos con capacidad de producir huevos, en un período de 1 a 2 meses (Carrada, 2004).

Patogenia:

La principal patología producida por *Trichiura*; proviene de la lesión mecánica, al introducirse parte de la porción anterior en la mucosa del intestino grueso. Es una lesión traumática que causa inflamación local, edema y hemorragia, con pocos cambios histológicos. La gravedad de la patología es proporcional al número de parásitos. En casos graves existe una verdadera colitis y cuando hay intensa invasión del recto, asociada a desnutrición, puede presentarse el prolapso de la mucosa rectal. La pérdida de sangre, que ocurre en los casos de infecciones severas, se debe a hemorragia causada por la colitis y el prolapso rectal. Ocasionalmente los parásitos pueden introducirse en el apéndice y causar inflamación de este órgano (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

La mayoría de los pacientes son asintomáticos; sólo presentan síntomas aquellos con infección severa; dichos síntomas pueden ser malestar y dolor abdominal inespecíficos hasta prolapso rectal, anemia, desnutrición y síndrome disenteriforme. El diagnóstico se realiza al detectar huevecillos en heces (Lozoya et al, 2010).

1.4.1.3 Estrongiloidiosis.

La estrongiloidiosis es una infección causada por *S. stercoralis*, un nemátodo que se encuentra ampliamente diseminado en las áreas tropicales y subtropicales. El género

Strongyloides está clasificado en el orden Rhabditida, y la mayoría de los miembros son nematodos microbíveros que viven en el suelo. Existen 52 especies de *Strongyloides*, pero la mayoría no infecta a los humanos. *S. stercoralis* es el patógeno más común para los humanos (Farthing, 2010).

Agente etiológico:

S. stercoralis es un parásito muy pequeño que vive en el interior de la mucosa del intestino delgado, principalmente en duodeno y yeyuno. El parásito macho no existe y se ha comprobado que la hembra es partenogénica. La hembra parásita es filariforme, transparente, mide aproximadamente 2 mm de largo por 50 μ de diámetro. Los huevos son muy similares a los de *Uncinaria*. Se encuentran en las hembras adultas y luego en el interior de los tejidos en donde éstas habitan. La presencia de los huevos en materias fecales es muy rara, sólo acontece excepcionalmente, en casos de diarrea muy intensa, que rápidamente arrastre al exterior porciones de mucosa intestinal. Los huevos eclosionan en la mucosa intestinal y dan origen a la primera forma larvaria, llamada rhabditiforme que sale a la luz del intestino delgado, es arrastrada con el contenido intestinal y eliminada al exterior con las materias fecales; en la tierra estas larvas se transforman en filariformes. Los dos estados larvarios, tiene características diferentes:

- a. Larva rhabditiforme:** Es móvil, mide aproximadamente 250 μ de longitud por 15 μ de diámetro; posee un extremo anterior como con cavidad bucal corta; un esófago con tres partes: cuerpo, istmo con anillo nervioso y bulbo; el intestino que termina en el ano en el extremo posterior; su primordio genital es grande y en forma de medialuna un poco posterior a la mitad del cuerpo (Botero y Restrepo, 2008).
- b. Larva filariforme:** Es muy móvil con 500 a 700 μ de largo por 25 μ de diámetro; puede o no tener membrana envolvente; no se observa cavidad bucal, presenta en la parte anterior un estilete; el extremo posterior termina en muesca, lo que constituye la principal diferencia (Botero y Restrepo, 2008).
- c. Adultos de vida libre:** Algunas larvas rhabditiformes en la tierra se pueden convertir en gusanos macho y hembra de vida libre; estas formas no parasitarias tienen morfología muy diferente a la hembra parásita (Botero y Restrepo, 2008).

Ciclo de vida:

S. stercoralis tiene un ciclo de vida complejo. La infección comienza cuando las larvas presentes en la tierra penetran la piel de quienes caminan descalzos; atraviesan luego los capilares y viajan a los alvéolos pulmonares, ascienden por los bronquios, la tráquea y son deglutidas, llegan finalmente al duodeno-yeyuno, asentándose dentro de las criptas de Lieberkühn en la mucosa entérica. Otra hipótesis señala que las larvas migrantes en la piel alcanzan el duodeno, desplazándose por el tejido subcutáneo, probablemente ambas rutas sean posibles. Con certeza sabemos: las larvas infectantes mudan dos veces antes de llegar a ser hembras partenogénicas. Adviértase que la hembra deposita los huevecillos dentro de los enterocitos, por lo cual es raro hallarlos en las heces. Las larvas rhabditiformes (L-1) salientes son liberadas en el líquido duodenal y luego pasan a las heces fecales. Cuando el ambiente externo es húmedo, tibio y sombreado, algunas L-1 sufren dos mudas transformándose en larvas filariformes (L-3) miden 500-700 μ de largo por 25 μ de ancho, la mitad anterior está ocupada por el esófago y la cola trifurcada se ve con el microscopio como una muesca, propiedad con valor diagnóstico. Las L-3 son infectantes y deben ser manejadas con suma prudencia para evitar una contaminación en el laboratorio. Los parasitólogos expertos han señalado dos rutas posibles. En la directa (homogónica), las L-1 caídas al suelo se alimentan hasta convertirse en L-3 y cesan de alimentarse, aunque sí permanecen en la porción superficial de la tierra, esperando el contacto con la piel del hospedador, señalándose que el periodo prepatente de la strongyloidiasis humana dura cerca de un mes. El ciclo indirecto (heterogónico) incluye varias generaciones de vida libre, facilitando así la propagación y multiplicación amplificada del parásito, realizada principalmente en los ambientes contaminados y carentes de servicios sanitarios, en donde la gente más pobre acostumbra caminar descalza (Carrada-Bravo, 2008).

Patogenia:

Debemos diferenciar claramente en esta parasitosis las distintas etapas de invasión al organismo humano, que corresponden a cuadros patológicos diferentes. Ellas son la invasión cutánea, el paso por los pulmones, el establecimiento en el intestino y la invasión de otros órganos (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

El diagnóstico consiste en la visualización directa del nemátodo mediante métodos parasitológicos en heces o incluso en esputo. Dada la alta morbilidad y mortalidad en inmunocomprometidos (entre 15 y 87% de mortalidad cuando se disemina) o en formas clínicas severas de esta infección parasitaria, la sospecha clínica debe ser confirmada mediante un examen de heces, esputo y por serología, cuando esta última sea disponible (Marcos et al, 2010).

1.4.2 Céstodos.

Los céstodos son parásitos aplanados que pertenecen al Phylum *Platyhelminthes* (Plathelminthos), compuestos por un órgano de fijación llamado escólex y un cuerpo o estróbilo, constituido por segmentos, llamados proglótides, en forma de cadena. Viven adheridos a la pared intestinal por el escólex. Se consigue una eliminación completa del parásito únicamente cuando este escólex se ha desprendido en cuyo caso el parásito es eliminado del organismo; de otro modo se continuará el crecimiento a partir de nuevos proglótides formados en la parte delgada o cuello (Botero y Restrepo, 2008).

1.4.2.1 Teniasis.

Presenta distribución geográfica amplia. Por ser parásitos que se observan fácilmente, fueron reconocidos desde la antigüedad, tanto en su forma adulta como en la etapa larvaria (Botero y Restrepo, 2008).

Agente etiológico:

T. solium, vive en el intestino delgado, principalmente en el yeyuno, adherida por el escólex. Los proglótides grávidos terminales se desprenden y salen espontáneamente o mezclados con las materias fecales. Estos proglótides tienen movimiento de contracción y alargamiento, lo que les permite desplazarse lentamente. Los huevos se encuentran en el útero, son redondeados o ligeramente ovalados, de aproximadamente 30 a 40 μ de diámetro, con doble membrana gruesa y radiada que le da semejanza a una llanta, son de color café y presentan en su interior una larva hexacanto u oncosfera, con tres pares de ganchos. A simple vista los parásitos son aplanados y se observan como una cinta blanca

con un extremo más delgado que corresponde al escólex, del tamaño de una cabeza de alfiler de 1-2 mm de diámetro. *T. solium* posee: escólex con cuatro ventosas y un rostelo con corona doble de ganchos, proglótides grávidos con menos de 12 ramas uterinas principales a cada lado. El adulto mide hasta 5 metros y posee hasta 1.000 proglótides. Los proglótides grávidos salen con menos frecuencia, en cambio se observa la eliminación de porciones de estróbilo con la defecación y presenta 3 lóbulos ováricos, carece de esfínter vaginal (Orta *et al*, 2011).

Ciclo de vida:

El hombre es el único huésped definitivo y la infección se adquiere al ingerir carne cruda o mal cocida de cerdo, infectada por larvas (*Cysticercus cellulosae*). Los pacientes infectados eliminan los proglótides por el ano, espontáneamente o con las materias fecales. Cuando caen a la tierra se desintegran y liberan los huevos en el suelo. Los huevos son infectantes inmediatamente y salen sin necesidad de embrionar en la tierra. Cuando son ingeridos por animales que actúan como huéspedes intermediarios (cerdo), las larvas hexacantos se liberan en el intestino delgado, penetran la pared de éste, por circulación y van a localizarse en diversos sitios del organismo, principalmente en los músculos estriados. La larva en el cerdo forma una membrana transparente y origina un quiste que tiene en su interior líquido y escólex. Este quiste se llama cisticerco, el cual al ser ingerido por el hombre, en carne cruda o mal cocida, evagina el escólex en el intestino delgado. Este se adhiere a la mucosa, forma proglótides y da origen a la *Taenia* adulta. El período prepatente para el hombre es de 2 a 3 meses. El principal huésped intermediario es el cerdo. El *C. cellulosae* es ovalado, mide 5 mm de ancho y 10 mm de largo, posee un escólex invaginado con ventosas y ganchos (Botero y Restrepo, 2008).

Patogenia:

En la mayoría de los pacientes la infección es única, por lo cual se han llamado solitarias; sin embargo, se encuentran casos de teniasis múltiple. El parásito se fija en el intestino delgado por medio de las ventosas en las dos *Taenias* y además por ganchos. La patología que causa la *T. solium* en su estado adulto es muy escasa; puede producir irritación mecánica en la mucosa intestinal y rara vez reacción inflamatoria (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

El dato más importante para establecer el diagnóstico de la teniasis, es la observación y examen de los proglótidos grávidos que son expulsados junto con la materia fecal. En la recuperación de éstos se emplea el método del tamizado de heces expulsadas durante las últimas 24 horas. Los proglótidos obtenidos se deben de comprimir entre dos portaobjetos y observarlos a contraluz o al microscopio estereoscópico a poco aumento. La cuenta de las ramas uterinas, nos permitirá determinar de qué tipo de *Taenia* se trata: de 8-12 ramas uterinas corresponde a *T. solium* y de 15 a 30 a *T. saginata*. En caso de expulsión y recuperación del escólex, las características morfológicas de éstos es lo suficientemente clara como para permitirnos dilucidar si se trata de una u otra *Taenia* (Tay et al, 2010).

1.4.2.2 Himenolepiosis.

Agente etiológico:

H. nana, es el más pequeño de los céstodos humanos, mide de 2 a 4 cm. El escólex posee 4 ventosas con rostelo retráctil y una corona de ganchos. El cuello es largo, delgado y se continúa con el estróbilo, la cual puede tener hasta 200 proglótidos más anchos que largos: éstos contienen principalmente los órganos genitales que desembocan a un poro genital lateral por donde salen los huevos. Estos son ovalados o redondeados con un diámetro de 40 a 50 μ , blancos, transparentes, con una doble membrana y filamentos en forma de mechón que salen de los polos de la membrana interna. En el interior se encuentra la oncosfera provista de tres pares de ganchos (Botero y Restrepo, 2008).

Ciclo de vida:

El parasitismo por este céstodo es múltiple; los parásitos adultos se localizan en el intestino delgado de los huéspedes definitivos, que son las ratas, ratones y el hombre. Los huevos resultan infectantes inmediatamente salen en las materias fecales y no requieren huésped intermediario. La transmisión se hace por vía oral, la oncosfera se libera en el duodeno y penetra en la mucosa intestinal donde forma una larva llamada cisticercoide, la cual al cabo de varios días sale de nuevo a la luz intestinal, para formar el parásito adulto que se fija en la mucosa. El ciclo completo de entrada del huevo es de aproximadamente 3 semanas y la vida de los parásitos adultos es de varias semanas. Existe la posibilidad de que los huevos

den origen a oncosferas en el intestino al salir al exterior, en cuyo caso puede haber hiperinfección interna (Botero y Restrepo, 2008).

Patogenia:

Las lesiones producidas por este parásito son siempre leves y consisten en inflamación de la pared interna del intestino delgado. *H. nana* por presentar un desarrollo larvario en el interior de la mucosa intestinal del hombre, puede causar alteraciones en las vellosidades intestinales, especialmente en las infecciones masivas (Botero y Restrepo, 2008).

Diagnóstico:

Cuando existen pocos agentes en el intestino, la parasitosis puede ser asintomática; asimismo en personas adultas, rara vez se presentan síntomas. En los niños es frecuente encontrar dolor abdominal mesogástrico, diarrea con moco pero sin sangre, hiporexia o anorexia, cefalea, mareos, náuseas y vómitos. El hallazgo de los huevos en la materia fecal colectada y observada durante tres días consecutivos, constituye el diagnóstico definitivo. Se utilizan los métodos de concentración-flotación, ya sea cualitativos (Faust), o cuantitativos (Ferreira) (Tay et al, 2010).

1.5 Métodos de diagnóstico parasitológico en heces.

El examen coprológico es el método más simple para la identificación de parásitos intestinales en heces, pero existen otros procedimientos complementarios como métodos de concentración, tamizaje, técnicas de coloración etc. que pueden efectuarse, de acuerdo a las necesidades (López y López, 2003).

Para realizar este examen deben recogerse un mínimo de tres muestras de heces, tomadas en días alternos. La defecación debe efectuarse en un recipiente limpio y recoger una pequeña cantidad de heces (tamaño de una nuez) en un recipiente estéril. Las muestras deben remitirse lo antes posible al laboratorio (especialmente heces diarreicas), conservándose en lugar fresco o utilizando los distintos fijadores como: alcohol polivinílico (PVA) o fijador de Saperó y Lawless que es una mezcla de merthiolate-yodo-formol (MIF) que evitan la destrucción de las formas parasitarias. Las muestras de aspirados (duodenal,

biliar, etc.) y biopsias deben recogerse en contenedores estériles y remitirse lo antes posible al laboratorio (López y López, 2003).

1.5.1 Coprológico directo.

Consiste en la realización de un examen macroscópico de las características físicas de las heces y un análisis microscópico mediante un examen directo con solución salina (SS) y lugol. Este examen es utilizado para el diagnóstico de las diferentes formas evolutivas de los parásitos intestinales (huevos, larvas y vermes adultos de helmintos intestinales, trofozoitos y quistes de protozoarios) (Chacón et al, 2007).

1.5.2 Kato y kato-katz.

Se utiliza para la búsqueda y recuento de huevos de helmintos de forma cualitativa (Kato) o cuantitativa (Kato-Katz). Se fundamenta en la clarificación de las heces por acción de la glicerina y coloración de contraste con verde de malaquita. Este método utiliza solución de Kato (glicerina-verde de malaquita) (Chacón et al, 2007).

1.5.3 Ziehl–Neelsen modificado (Kinyoun).

Se utiliza para la detección de ooquistes de coccidias intestinales (Chacón et al, 2007).

1.5.4 Métodos de concentración.

Los trofozoítos, quistes, ooquistes, larvas y huevos, pueden concentrarse por diversos procedimientos, lo cual permite aumentar el diagnóstico de las infecciones parasitarias, especialmente cuando el número de parásitos es escaso.

Estos procedimientos de concentración pueden ser: flotación, sedimentación o por combinación de ambos métodos. La elección de cada procedimiento dependerá de las facilidades del laboratorio, el adiestramiento del personal, la procedencia de la muestra (zona geográfica), el conocimiento de la prevalencia de los parásitos (zona costera, andina y selvática o área rural o urbana), y la especie del parásito que se desea investigar (Beltrán et al, 2003).

Su finalidad es aumentar el número de parásitos en el volumen de materia fecal que se examina microscópicamente, mediante procedimientos de sedimentación o flotación. En el material concentrado se encuentran más parásitos que en el resto de materia fecal (Botero y Restrepo, 2008).

a. **Métodos por sedimentación.**

El líquido de dilución posee una densidad mayor que las partículas de alimento y menor que los elementos parasitarios. Dentro de estos métodos se encuentran los siguientes:

- **Formol-tritón-éter:** Es un método de sedimentación empleado para concentrar huevos y larvas de helmintos, así como quistes de protozoarios presentes en las heces. El formol fija los huevos, larvas de helmintos y los quistes de protozoarios. El éter emulsifica las grasas presentes en las heces y el tritón vence la tensión superficial. Método de Baermann: examen utilizado en la pesquisa y aislamiento de larvas de *Strongyloides sp.*, en muestras de heces. Esta técnica se basa en el hidrotropismo, termotropismo y tigmotropismo positivo y geotropismo negativo de las larvas de nemátodos. Es bastante sensible para determinación de *S. stercoralis*, asimismo permite obtener buena concentración de larvas vivas de este helminto (Chacón et al, 2007).
- **Método de sedimentación espontánea en tubo o Técnica de concentración por sedimentación, sin centrifugación:** Esta técnica se basa en la gravedad que presentan todas las formas parasitarias para sedimentar espontáneamente en un medio menos denso y adecuado como la solución fisiológica. En este método es posible la detección de quistes, trofozoítos de protozoarios, huevos y larvas de helmintos (Beltrán et al, 2003).
- **Método de sedimentación rápida o concentración por sedimentación sin centrifugación:** Se basa en la gravedad de los huevos que, por su tamaño y peso sedimentan rápidamente cuando se suspenden en agua (Beltrán et al, 2003).
- **Técnica de Faust:** Conocido también como método de sedimentación y flotación por centrifugación con sulfato de zinc al 33,3% y densidad 1180, se basa en que los quistes y/o huevos de los parásitos flotan en la superficie por ser de menor densidad que el sulfato de zinc al 33,3%, cuya densidad es 1180. Es útil para la

búsqueda de quistes y/o huevos de parásitos y excepcionalmente se observan larvas. Se recomienda controlar la densidad del sulfato de zinc y usar agua filtrada para el lavado previo de la muestra (Beltrán et al, 2003).

b. Métodos por flotación.

Los parásitos o sus formas de eliminación, tienen una densidad inferior a la del líquido de dilución concentrándose en su superficie. Todas las operaciones que requieren las distintas técnicas deben ser realizadas rápidamente debido a que el líquido de dilución impregna a los huevos, y éstos, en pocos minutos, se hacen más pesados y caen al fondo. Además, alteran su morfología y es necesario tener el hábito de reconocerlos en tales condiciones para poder identificarlos, dentro de estos podemos citar los siguientes:

- **Método de Sheather Sugar:** También conocido como método de concentración por flotación con centrifugación en una solución de azúcar, se basa en la flotación de quistes, ooquistes y huevos de parásitos en una solución de azúcar que posee mayor densidad que ellos. Esta técnica es útil para la concentración de quistes y ooquistes de protozoos y huevos de helmintos y se usa como método preferencial en el diagnóstico de los coccidios: *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Cystoisospora*, etc. (Beltrán et al, 2003).
- **Método de Ritchie o de sedimentación por centrifugación:** Se basa en la concentración de los quistes y huevos por sedimentación mediante la centrifugación, con la ayuda de formol y éter para separar y visualizar los elementos parasitarios (Beltrán et al, 2003). La técnica se basa en el uso de la fuerza centrífuga que obligara a los parásitos a ir al fondo del tubo, el éter que elimina el detritus orgánico, mientras que el formol ayuda a mantener la integridad de las formas parasitarias que se concentran (Tay et al, 2010).

1.5.5 Métodos de coloración para protozoarios.

- a. **Método de Ziehl-Neelsen (Modificado para observación de coccidias: *Cryptosporidium* y otros):** Se basa en el comportamiento ácido-resistente de la cubierta de estos parásitos, los cuales se tiñe de rojo y destacan sobre un fondo verde o azul, dependiendo del colorante de contraste usado (Beltrán et al, 2003). Con estos métodos se obtienen

detalles morfológicos exactos, que permiten efectuar el diagnóstico de especie con mayor seguridad (Botero y Restrepo, 2008).

- b. Coloración Tricrómica (Gomori Wheatley):** Esta tinción permite colorear las estructuras internas de los protozoos para su caracterización. Esta técnica utiliza muestras de heces frescas, preservadas con PVA o fijadas con Schaudinn. Es un método rápido y de utilidad en el estudio de *Entamoeba*, *Giardia*, *Balantidium*, *Cyclospora* y otros protozoarios (Beltrán et al, 2003).

- c. Coloración de hematoxilina férrica de Heidenhain:** Es una técnica clásica para la tinción de protozoos intestinales, especialmente amebas, que resalta la morfología nuclear, característica muy importante para la clasificación género especie (Botero y Restrepo, 2008).

1.5.6 Métodos de coloración para helmintos.

- **Coloración Carmín clorhídrico:** Esta coloración tiñe las estructuras internas de especímenes adultos o segmentos de éste. Se usa de preferencia para el estudio de céstodos y tremátodos, ya que los nemátodos suelen deformarse con el montaje (Manual de parasitología, 2012).

- **Coloración hematoxilina férrica de Delafield:** Se usa para céstodos y tremátodos. Permiten colorear estructuras internas de especímenes adultos o fragmentados del mismo (Manual de parasitología, 2012).

1.5.7 Conservación de parásitos.

Debido que el examen de las muestras fecales no puede realizarse habitualmente tras la emisión, las muestras deben conservarse. Existen distintas alternativas para la conservación de parásitos, entre ellas tenemos el uso de diferentes soluciones fijadoras y métodos de preparación de placas (Manual de parasitología, 2012).

a. Fijadores y/o conservadores de parásitos.

Los fijadores sirven para conservar protozoarios, sin que se modifiquen las estructuras internas, sobre todo cuando las muestras no pueden ser procesadas inmediatamente (Beltrán et al, 2003). Existen muchas sustancias fijadores entre las cuales tenemos las siguientes:

- **PAF (Phenol-alcohol-formaldehyde):** Conserva las estructuras de los parásitos (trofozoítos, quistes, huevos y larvas), pudiéndose incluso observarse en semanas o meses sin que haya ocurrido deterioro alguno. Es recomendable mantener el fijador preparado en frascos color caramelo. Además, permite observar el material al microscopio (Manual de parasitología, 2012).
- **PVA (Polivinil alcohol=alcohol polivinílico):** Fija y conserva, principalmente los trofozoítos y quistes de protozoarios, por tiempo muy prolongado sin modificación importante de su morfología (Manual de parasitología, 2012).
- **MIF (Merthiolate-yodo-formol):** Esta mezcla fija y colorea simultáneamente los quistes y huevos de parásitos, permitiendo la observación inmediata de la muestra (Manual de parasitología, 2012).
- **Formol:** Puede ser preparado diluyendo el formol en agua o solución salina. Conserva los quistes de protozoos (formol al 5%) y huevos y larvas de helmintos (formol al 10%) (Manual de parasitología, 2012).
- **SAF (Acetato sódico-ácido acético glacial-formol):** Es una solución compuesta por acetato sódico, ácido acético glacial, formol y agua, que conserva trofozoítos, quistes, oosquistes, esporas de microsporidios, huevos y larvas (Manual de parasitología, 2012).
- **Fijador Schaudinn:** Es una solución que contiene cloruro de mercurio, etanol, glicerina y ácido acético. Se utiliza para conservar trofozoítos y quistes de protozoos permitiendo realizar tinciones permanentes (Manual de parasitología, 2012).
- **Albúmina de Mayer:** Se utiliza para fijar frotis fecales para posterior tinción.

b. Fijadores para conservar helmintos adultos.

Estos fijadores sirven para conservar ejemplares adultos para su estudio morfológico, su preservación en museos o para contar con muestras de referencia. Los más usados suelen ser formol al 10%, ácido acético-formol (AFA) (Beltrán et al, 2003).

Es importante indicar que el formol no es recomendado por su acción endurecedora, es por ello que se utiliza una mezcla de alcohol al 70% con un 5% de glicerina, en esta se pueden mantener indefinidamente. La glicerina evita la deshidratación de las formas adultas, en el caso de que el alcohol se evapore (Manual de parasitología, 2012).

c. Métodos de preparación de placas permanentes y semipermanentes.

El método para realizar placas permanentes se realiza colocando bálsamo de Canadá a tinciones, mismo que confiere protección a estos frotis para su duración por largo tiempo.

El método para realizar placas semipermanentes consiste en sellar con vaselina o barniz de uñas los bordes del cubreobjeto que protege la muestra. También se obtienen preparaciones semipermanentes con el método de la doble laminilla, que consiste en cubrir la muestra con una laminilla pequeña sobre la cual se aplica bálsamo y una laminilla de mayor tamaño (Restrepo y Botero, 2008).

CAPITULO II
MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Población de estudio.

Se recolectaron 730 (100%) muestras de heces, procedentes de los laboratorios clínicos del Hospital Regional Isidro Ayora, Hospital Manuel Ignacio Montero, Hospital Universitario Motupe, Clínica Municipal Julia Esther González y Hospital Militar de la ciudad de Loja. Las muestras fueron recolectadas durante el período Agosto 2013 a Abril 2014.

Del total de las muestras analizadas, 360 (49,3%) fueron positivas con la carga pasariaria requerida para analizarlas mediante métodos de concentración, conservación, fijación, tinción, preparaciones permanentes y semipermanentes de placas.

Las muestras se analizaron en el laboratorio de histología de la UTPL.

2.2 Coproparasitario directo.

Mediante esta técnica fueron analizadas todas (730) las muestras recolectadas (ANEXO 1). Es importante recalcar que para las técnicas de los siguientes apartados se utilizó las muestras fecales parasitadas (360).

2.3 Concentración de parásitos intestinales.

Se realizó el método de Ritchie (ANEXO 2) y el método de Faust (ANEXO3).

2.4 Conservación de parásitos intestinales.

Se utilizó formol y MIF para la conservación de quistes, huevos y larvas. Se usó SAF para conservar huevos de helmintos, mientras que para parásitos adultos la mezcla de alcohol 70%-glicerina (ANEXO 4).

2.5 Fijación de parásitos intestinales.

Se utilizó PVA, albúmina de Mayer y el fijador Schaudinn para fijar las muestras conservadas en formol (ANEXO 5).

2.6 Coloración de parásitos intestinales.

Se realizó la técnica de tinción tricrómica para la coloración de quistes, huevos y larvas de las muestras fijadas anteriormente (ANEXO 6) y la técnica de tinción con hematoxilina férrica de Heidenhain para quistes de protozoos (ANEXO 7).

2.7 Preparación de placas permanentes y semi-permanentes.

Para la preparación de placas permanentes se utilizó porta-objetos fijados con parásitos, previamente teñidos con hematoxilina férrica para montar con bálsamo de Canadá, que proporciona protección a la tinción y conserva la placa durante mucho tiempo.

Mientras que para la preparación de placas semipermanentes se usó las muestras conservadas con MIF, sellándolas con barniz de uñas (ANEXO 8).

2.8 Captura de imágenes en alta resolución de parásitos intestinales.

Para realizar el atlas se procedió a capturar imágenes de placas semipermanentes, mediante la ayuda del microscopio (OLYMPUS U-CMDA3-UTPL) con cámara incorporada (INFINITY 2-UTPL) del laboratorio de microbiología de la UTPL.

2.9 Análisis estadístico.

Se utilizó análisis descriptivo, que consiste en el análisis de cada una de las variables realizado de forma dependiente. Para las variables numéricas se calcularon los principales estadísticos de la central y de dispersión.

Para finalizar el análisis descriptivo de este tipo de variables, se determinó la porción de frecuencias de cada una de las categorías (Thrusfiel, 2007).

CAPITULO III
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Coproparasitario directo.

Con una sensibilidad del 100% y especificidad del 50%, de las 360 muestras parasitadas se pudo identificar 13 especies de parásitos intestinales siendo *E. histolytica*, 32.7%; *E. coli*, 27.5% y *E. nana*, 11.38% las más frecuentes. Tabla N°2

Tabla N°2 Prevalencia de parásitos intestinales en los hospitales de la ciudad de Loja	
Parásitos intestinales	Porcentaje (%)
<i>Entamoeba histolytica</i>	32.7
<i>Entamoeba coli</i>	27.5
<i>Endolimax nana</i>	11.38
<i>Giardia lamblia</i>	8.33
<i>Blastocystis hominis</i>	6.94
<i>Ascaris lumbricoides</i>	6.66
<i>Chilomastix mesnilli</i>	2.22
<i>Iodamoeba butschlii</i>	1.38
<i>Hymenolepis nana</i>	1.11
<i>Hymenolepis diminuta</i>	0.55
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0.55
<i>Trichuris trichiura</i>	0.27
<i>Taenia solium</i>	0.27

Elaboración: Celi, S. (2014)

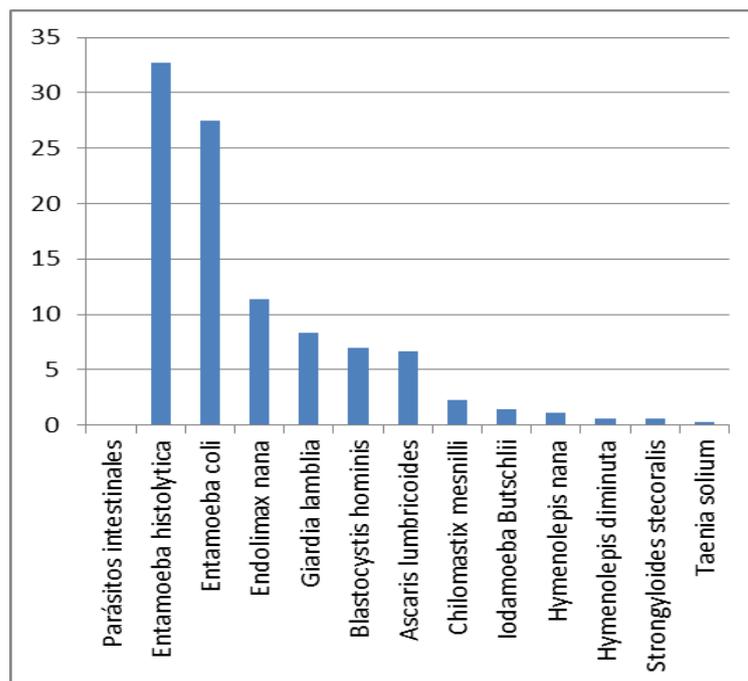


Figura 1. Porcentaje de prevalencia de parásitos intestinales
Fuente: Celi, S. (2014)

Con respecto al quiste de *E. histolytica* otro estudio realizado en la ciudad de Loja en el 2008 muestra una prevalencia de 36.6%, resultado que es similar a los registrados en nuestro estudio (González y Macas, 2008); esta incidencia en el 2011 varía alcanzando una prevalencia del 91% (González, 2011). Sin embargo al comparar con un estudio realizado en Cañar en el 2012 vemos una diferencia ya que posee una prevalencia del 15.22% (Rojas y Sarmiento, 2012).

En cuanto al quiste de *E. coli* en un estudio realizado en la ciudad de Loja en el 2011 alcanza una prevalencia del 51% (González, 2011); mientras que en la provincia de Cañar un 21.74% (Rojas y Sarmiento, 2012).

Es importante mencionar que la prevalencia de parásitos ha disminuido en los últimos 3 años en la ciudad de Loja; mientras que comparando con Cañar hay una diferencia notable probablemente por las diferentes medidas de salubridad y diferencias geográficas.

3.2 Concentración de parásitos intestinales.

De las 360 muestras, 293 fueron analizadas por el método de sedimentación ó de Ritchie y 67 fueron analizadas por el método de flotación ó de Faust. Tabla N°3

Tabla N°3 Muestras analizadas por el método de Ritchie y el método de Faust		
Parásitos	N° de muestras	
	Método de Ritchie	Método de Faust
<i>E. histolytica</i>	100	18
<i>E. coli</i>	99	0
<i>E. nana</i>	21	20
<i>G. lamblia</i>	15	15
<i>B. hominis</i>	25	0
<i>A. lumbricoides</i>	15	9
<i>C. mesnilli</i>	8	0
<i>I. butschlii</i>	5	0
<i>H. nana</i>	2	2
<i>H. diminuta</i>	1	1
<i>S. stercoralis</i>	2	0
<i>T. trichiura</i>	0	1
<i>T. solium</i>	0	1
Total muestras	293	67

Elaboración: Celi, S. (2014)

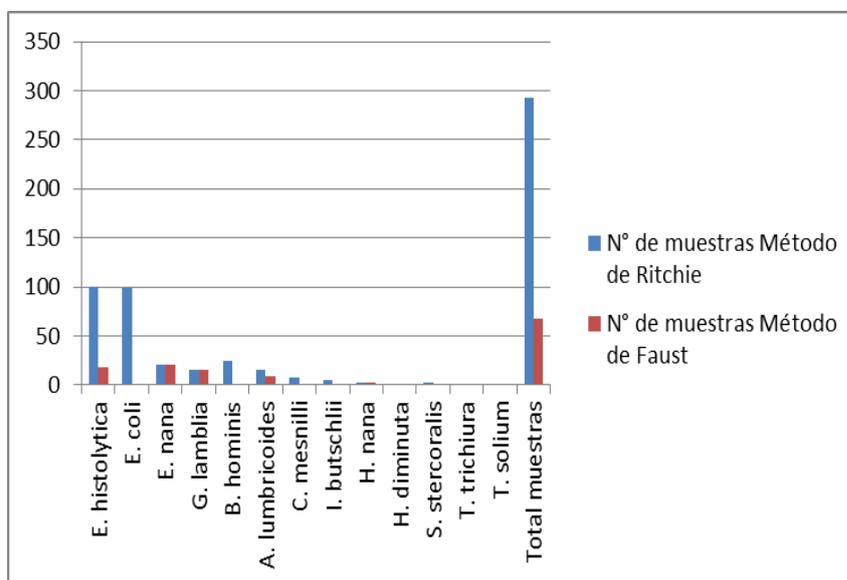


Figura 2. Número de muestras analizadas por el método de Ritchie y de Faust
Fuente: Celi, S. (2014)

Adicionalmente se determinó la correlación entre estos dos métodos para la recuperación de parásitos intestinales. Tabla N°4

Tabla N°4 Porcentaje de recuperación de parásitos intestinales				
Parásitos	n	%	n	%
	Método de Ritchie		Método de Faust	
<i>E. histolytica</i>	60	60	3	16.7
<i>E. coli</i>	67	67.7	0	0
<i>E. nana</i>	15	71.4	5	0
<i>G. lamblia</i>	10	66.7	0	0
<i>B. hominis</i>	2	8	0	0
<i>A. lumbricoides</i>	10	66.7	5	55.6
<i>C. mesnilli</i>	4	50	0	0
<i>I. butschlii</i>	2	40	0	0
<i>H. nana</i>	0	0	1	50
<i>H. diminuta</i>	1	100	1	100
<i>S. stercoralis</i>	1	100	0	0
<i>T. Trichiura</i>	0	0	0	0
<i>T. solium</i>	0	0	0	0
Total muestras	172		15	

Elaboración: Celi, S. (2014)

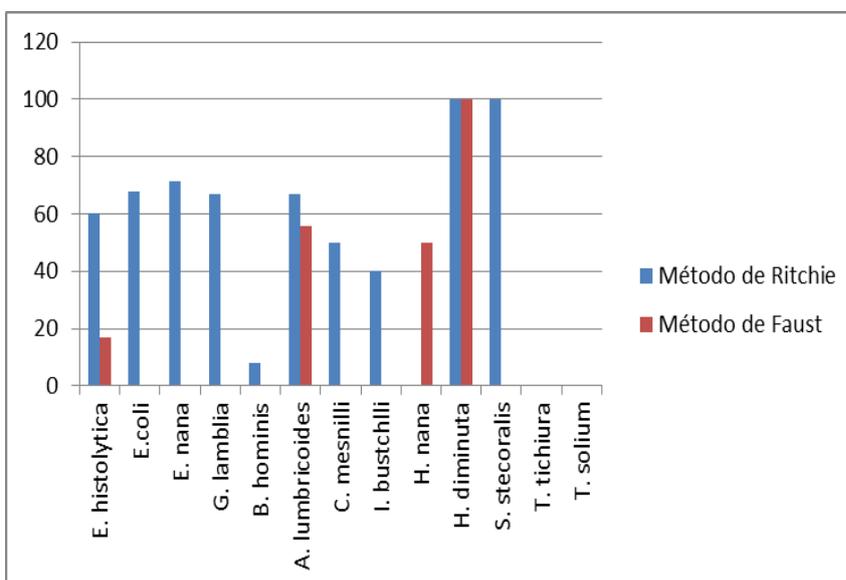


Figura 3 Porcentaje de recuperación de los parásitos intestinales
Fuente: Celi, S. (2014)

Como vemos en la tabla N°4 el método de Ritchie permite recuperar mayor cantidad de quistes de protozoos. En el caso de los quistes de *E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *G. lamblia*, *B. hominis*, *C. mesnilli*, *I. butschlii* se los recuperó en mayor porcentaje que en el método de flotación.

Los porcentajes de recuperación para los métodos de Ritchie y Faust fueron del 60% y 16.7% para *E. histolytica*; 67,7% y 0% para *E. coli*; 71.4% y 0% para *E. nana* respectivamente.

Comparando con otro estudio, se observó que con el método de Ritchie los protozoos *B. hominis* y *G. lamblia* se recuperaron en 72.6% y 85.2% respectivamente, mientras que con el método de flotación se recuperaron en 46.5% y 64.8% respectivamente resultando más efectivo el método de Ritchie.

Para larvas de *S. stercoralis* también resultó efectiva la técnica de Ritchie con una recuperación del 100% mientras que para huevos de *H. nana* el método de Faust permitió una recuperación del 50%.

En otros estudios se encontró que la recuperación por flotación de huevos de *H. nana* fue del 83.3%, mientras que con el método de Ritchie se recuperaron en un 72% (Navone et al, 2009).

En otro estudio se resaltó que la recuperación por sedimentación de huevos y larvas de helmintos tuvo una gran ventaja, pero la técnica de flotación para la observación de quistes de protozoos, huevos de *H. nana* y *Uncinaria* resultó más fiable (Atías et al, 2005). En otro trabajo la recuperación de huevos de helmintos por la técnica de flotación fue más efectiva que por la de Ritchie (Nuñez et al, 2007).

La recuperación de los huevos de *T. trichiura* y *T. solium* no resultó efectiva por ninguno de los métodos, posiblemente por la destrucción de los huevos durante el proceso de centrifugación y también por la escasa presencia de parásitos.

Cabe recalcar que los dos métodos son útiles para la recuperación de quistes, huevos y larvas, pero los métodos de flotación podrían ser más efectivos para huevos de helmintos ya que estos son más grandes y pesados que los quistes.

3.4 Conservación de parásitos intestinales.

Del total de las muestras parasitadas (360), 187 fueron recuperadas por métodos de concentración, siendo conservadas y fijadas posteriormente.

Se obtuvo excelentes resultados con formol ya que se mantienen las estructuras y características intactas de los protozoos *E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *G. lamblia*, *C. mesnilli* por alrededor de 6 meses, excepto en el caso del quiste de *I. butschlii* y *B. hominis* que

pasada una semana se perdió parcialmente el color de su vacuola característica y la totalidad de los quistes respectivamente.

En el caso de los huevos *A. lumbricoides* y larvas de *S. stercoralis*, también se obtuvo buenos resultados en la conservación de estructuras, se observan tres membranas y sus estructuras internas. En el caso de *H. nana* y *H. diminuta*, se observó al siguiente día un cambio en el 40% de los huevos, se vio un plegamiento de la corteza externa así como lo señala también otra investigación donde se apreció un hundimiento de la corteza externa en alrededor del 30% de los huevos pero sin cambios en el resto de estructuras (Muñoz et al, 2005).

Posteriormente se realizó la conservación de las muestras concentradas con MIF (*E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *G. lamblia*, *C. mesnilli*, *I. butschlii*, *A. lumbricoides*, *H. nana* y larvas de *S. stercoralis*), observando la conservación de todas las estructuras de cada parásito que son muy importantes para su identificación.

Se pudo corroborar que el reactivo MIF fija los parásitos permitiendo preparar placas semipermanentes.

Se conservó el parásito adulto de *A. lumbricoides* en alcohol 70%-glicerina conservándolo por más de 6 meses sin cambios y sin evaporación del alcohol (ANEXO 10).

3.5 Fijación de parásitos intestinales.

Para la fijación se aplicaron tres métodos: PVA, albúmina de Mayer y fijador Schaudinn; y se utilizó muestras conservadas en formol 10%.

En la fijación de protozoos con PVA y albúmina de Mayer, se dio una pérdida de la muestra al momento de realizar la tinción, razón por la cual en el presente estudio no fue posible realizarlo.

También se fijó placas con Schaudinn (*E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *G. lamblia*, *C. mesnilli*), en la cual no hubo pérdida de la muestra en el frotis y se pudo continuar con la tinción.

3.6 Tinción de protozoos intestinales con hematoxilina férrica.

A partir de las muestras fijadas con Schaudinn, se procedió a teñir con la técnica de hematoxilina férrica de Heidenhain a los quistes de protozoos.

Al realizarse la tinción de los quistes mejor conservados: *E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *G. lamblia*, *C. mesnilli*, obtuvimos pocas estructuras teñidas que no se observan como lo indica la literatura, el citoplasma de color azul oscuro y los núcleos morado intenso a negrozco. Esto posiblemente porque se trabajó con muestras conservadas en formol al 10% y lo que recomienda la literatura es que sean frotis fecales de muestras frescas (Botero y Restrepo, 2008).

Las muestras conservadas y fijadas con MIF, no necesitan otro tipo de tinción por lo que se procedió a hacer placas semipermanentes directamente.

3.7 Preparación de placas permanentes y semipermanentes en portaobjetos.

De las preparaciones en MIF selladas con barniz de uñas se pudo obtener 11 preparaciones en placa semipermanentes de *E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *Giardia Lamblia*, *C. mesnilli*, *I. butschlii*; huevos de *A. lumbricoides*, *H. nana* y larvas rhabditiforme y filariforme de *S. stercoralis*, por alrededor de 2 meses (ANEXO 10).

3.8 Captura de imágenes de parásitos intestinales.

Se capturó imágenes en el microscopio (OLYMPUS U-CMDA3-UTPL) con cámara incorporada (INFINITY 2-UTPL) del laboratorio de microbiología obteniendo fotos inéditas de quistes de: *E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *G. lamblia*, *C. mesnilli*, *I. butschlii*; huevos de *A. lumbricoides*, *H. nana*, *T. solium* y larvas rhabditiforme y filariforme de *S. stercoralis*, estructurando un atlas de los parásitos intestinales de mayor prevalencia en la ciudad de Loja, que servirá para las cátedras de Parasitología de la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) (ANEXO 9).

CONCLUSIONES

- Los parásitos de mayor prevalencia fueron: *E. histolytica*, 32.70%; *E. coli*, 27.50%; *E. nana*, 11.38% y *G. lamblia*, 8.33%.
- En la concentración de parásitos intestinales, el método de Ritchie resultó más efectivo para recuperar quistes de *E. histolytica*, *E. coli*, *E. nana*, *G. lamblia*, *B. hominis*, *C. mesnilli*, *I. butschlii* y larvas de *S. stercoralis*.
- En la concentración de parásitos intestinales, el método de Faust permitió recuperar eficazmente huevos de *H. nana*.
- Para la fijación de parásitos intestinales, Schaudinn resultó ser el método más efectivo.
- Para la conservación de parásitos intestinales, MIF y formol 10% resultaron
- En la conservación de los parásitos, el formol al 10% produce cambios estructurales en los quistes de *B. hominis* y *I. butschlii*,

RECOMENDACIONES

- Trabajar con muestras frescas para realizar las coloraciones de parásitos intestinales, ya que el formol endurece las estructuras internas haciendo difícil la tinción.
- Capturar las imágenes de parásitos después de realizar la concentración.
- Ampliar el período de recolección de muestras, con el fin de obtener una mayor variedad de parásitos intestinales.
- Coordinar con Instituciones de Salud en programas relacionados a parasitosis intestinales, con el fin de brindar un servicio gratuito en sectores rurales del cantón Loja, para así conseguir suficiente práctica en cuanto a la identificación de los parásitos intestinales y a su vez contribuir con la conservación de estos en el banco de parásitos implementado.

BIBLIOGRAFÍA

Alcívar, E. Hernández, M. Ibarra, J. Macías, D. (2010). TESIS. "Fortalecimiento de la Investigación clínica epidemiológica de los helmintos céstodos: teniasis en la provincia de Manabí año 2009". Portoviejo. Ecuador.

Álvarez, R. Gutierrez, S. Vargas, M. Quero, A. Bulnes, D. Hernández, J. (2011) Diferencias clínicas entre oclusión y suboclusión intestinal por *Ascaris lumbricoides*. Datos que orientan al tratamiento quirúrgico. *Acta Pediatr Mex*, Vol. 32(3), pp. 156-162.

Aíias, A. Neghme, A. (2005) Parasitología clínica, 3ª edición. Edit. Mediterráneo. pp. 618.

Beltrán, M. (2004). IV Congreso Científico Internacional del Instituto Nacional de Salud, Prevalencia de parasitosis intestinal, en la población Aguaruna, Amazonas. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*. Lima. Perú.

Beltrán, M. Tello, R. César, N. (2003) Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Instituto Nacional de Salud, Perú.

Beteta, A. Gil, M. (2009, Mayo) Infección por *Trichuris Trichiura*. Madrid. Editorial Francisco Soria Melguizo, S.A.

Botero, D. Restrepo, M. (2008) Parasitosis Humana. (5ta Ed). Medellín. Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas.

Caraguay, D. Maza, M. (2012) Determinación de prevalencia de Teniosis y Cisticercosis (*Taenia spp.*) en las parroquias Amaluza y Bellavista del Cantón Espíndola Provincia de Loja". Tesis de grado obtenida no publicada. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.

Carrada, T. (2004) Trichuriasis: Epidemiología, diagnóstico y Tratamiento. *Rev. Mexicana de pediatría*. Vol. 71 (6), pp. 299-305

Carrada, T. (2008, abril) *Strongyloides stercoralis*: Ciclo vital, cuadros clínicos, epidemiología, patología y terapéutica. *Rev Mex Patol Clin*, Vol. 55 (2), pp. 88-110.

Cervantes, T. Quishpe, D. (2009) Factores de riesgo que inciden en la parasitosis intestinal de los niños preescolares y escolares de la ciudadela urbano-marginal Almeida de la ciudad de Milagro mayo-julio 2009. Universidad Estatal de Milagro, Milagro, Ecuador.

Chacón, N. Contreras, R. Márquez, W. Salinas, R. (2007) Importancia de la referencia médica en el diagnóstico de parasitosis intestinales por métodos coproparasitológicos. *Rev. de la Facultad de Medicina*, Vol. 30(1), pp. 90-96.

Chacón, N. Contreras, R. Márquez, W. Salinas, R. Romero, J. (2007) Importancia de la referencia médica en el diagnóstico de parasitosis intestinales por métodos coproparasitológicos. *Rev. de la Facultad de Medicina*, Vol. 30 (1), pp. 90-96

Devera, R. Angulo, V. Amaro, E. Finali, M. Franceschi, G. Blanco, Y. Tedesco, R. Requena, I. Velásquez, I. (2006). Parásitos intestinales en habitantes de una comunidad rural del Estado Bolívar, Venezuela. *Rev Biomed*, Vol. 17, 259-268.

Devera, R. Velásquez, V. Vasquez, M. Azacón, B. Jiménez, M. (2007) Blastocystis Hominis: Criterios de patogenidad. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 12 (2), pp. 23-28.

Díaz, M. Ramírez, N. Osorio, S. (2013, junio) El sentido de las enfermedades por parásitos intestinales en poblaciones americanas, identificando dilemas bioéticos. Rev. Latinoam bioet., Vol. 13(1), pp. 96-111.

Escobedo, A. (2001). Microbiología y Parasitología Médicas, TOMO III. Cap 113. Editorial Ciencias Médicas. La Habana-Cuba. Pag.331.

Farthing, M. Fedail, S. Savioli, L. Bundy, D. Krabshuis, J. (2010) Manejo de la Strongiloidiasis. *World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines*. Vol.1, pp. 1-15.

Gómez, J. Cortés, J. Cuervo, S. López, M. (2007, febrero) Amebiasis intestinal. Colombia. *Rev. asociación colombiana de infectología*. Vol. 11 (1), pp. 36-45

González, A. Macas, D. (2008) Etiología de la enfermedad diarreica aguda (EDA) en niños menores de cinco años durante el periodo febrero-junio 2008, en la ciudad de Loja. Tesis de grado obtenida no publicada. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.

González, L. (2011) "Parasitosis intestinal y su repercusión en el estado nutricional de los niños y niñas del 1° a 7° año de básica de la escuela González Suárez de la parroquia Chuquiribamba cantón y provincia de Loja en el periodo. Tesis de grado obtenida no publicada. Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador.

Jiménez, L. (2011) Parasitosis en niños de la escuela fiscal "12 de octubre", recinto San Agustín, km 42. parroquia 4 de diciembre el Carmen - Manabí 2011. Tesis de grado obtenida no publicada. Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador.

López, F. Paredes, G. (2011, Julio) Parasitosis intestinal y su influencia en el crecimiento y desarrollo en niños de 2 a 5 años tendrá relación con el conocimiento de los cuidadores, ciudadela "Las Palmas" ciudad de Milagro Enero a Julio 2011. Tesis de grado obtenida no publicada. Universidad Estatal de Milagro. Milagro, Ecuador.

López, G. Reyes, H. Hernández, G. De la Mora, I. Enríquez, S. Ortiz, C. Castillo, A. Mendez, S. García, I. Marcial, J. Torres, A. Oria, J. Vanoye, A. Gómez, S. (2008) Las crónicas de *giardia*. el parásito, la molécula y el fármaco. Mensaje Bioquímico, Vol. 37(1) pp. 196 – 212.

López, M. López, R. (2008) Diagnóstico de parasitosis intestinales. *Unidad de Medicina Tropical y Parasitología Clínica*. Vol. 59 (1.458), pp. 38,39.

Lozoya, D. Peláez, M. Salceda, J. (2010) Diagnóstico endoscópico de *Trichuris trichiura*. *Rev de Gastroenterología de México*, Vol. 2(75), pp.186

Marcos, L. Canales, M. Terashima, A. (2010) Métodos de diagnóstico para *Strongyloides stercoralis* en el Perú. *Rev. Peruana de Parasitología*. Vol. 18 (1), pp. 2-9.

Mendieta, D. Núñez, F. Escobedo, A. Pelayo, L. Fernández, M. Torres, D. Cordovi, R. (2003) Utilidad de 2 métodos coproparasitológicos y su empleo en un ensayo terapéutico anti-giardiasis. *Rev cubana med trop*, Vol. 55(3), pp.174-178.

Ministerio de Salud del Perú. (2010). Dirección General de Salud Ambiental. DIGESA.

Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2007). Área de Epidemiología. MSP.

Muñoz, V. Aguirre, X. Soto, R. Guerra, A. (2005, abril) Método para montaje permanente de huevos de helmintos enteroparásitos. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. Vol. 32 (2), pp. 101-104.

Navone, G. Gamboa, M. Kozubsky, L. Costas, M. Cardozo, M. Sisliauskas, M. González, M. (2009) Estudio comparativo de recuperación de formas parasitarias por tres diferentes métodos de enriquecimiento coproparasitológico. *Rev. parasitología latinoamericana*, Vol. 60, pp. 178-181.

Núñez, F. Sanjurjo, E. Finlay, C. (2007) Comparison of several coproparasitological techniques for the diagnosis of soil-transmitted intestinal helminthiasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 33: 403-6.

Organización Mundial de la Salud y UNICEF. (2011). La meta de los ODM relativa al agua potable y el saneamiento: el reto del decenio para zonas urbanas y rurales.

Organización Mundial de la Salud. (2007). Informe final sobre el control de las geohelmintiasis en los países de Centroamérica, México y República Dominicana. Honduras.

Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. (2005). "Las enfermedades desatendidas en las poblaciones postergadas, con énfasis en las Zoonosis". 14. a Reunión interamericana a nivel ministerial en salud y agricultura. Ciudad de México, D.F. México.

Orta, N. Guna, M. Pérez, J. Gimeno, C. (2009) Diagnóstico de las teniasis intestinales. España. *Rev Control de Calidad SEIMC*. Vol.1, pp. 1-9

Reyes, L. Chinchilla, M. (2008) Blastocystis Hominis. Morfología, patología y tratamiento. *Rev. Cost.Cienc. Méd.* Vol. 9(2), pp. 171-179.

Rivera, C. (2011) Parasitosis Intestinal en Niños y Niñas de la Escuela "Libertad" Portoviejo Manabí Abril a Septiembre del 2011. Tesis de grado obtenido no publicada. Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador

Rivera, C. (2011) Parasitosis Intestinal en Niños y Niñas de la Escuela "Libertad" Portoviejo Manabí Abril a Septiembre del 2011. Tesis de grado obtenido no publicada. Universidad Técnica de Manabí, Manabí, Ecuador.

Rivero, Z. Bracho, A. Calchi, M. Díaz, I. Acurero, E. Maldonado, A. Chourio, G. Arráiz, N. Corzo, G. (2009, Enero) Detección y diferenciación de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* mediante reacción en cadena de la polimerasa en individuos de una comunidad del Estado Zulia, Venezuela. *Rev. Cad. Saúde Pública*, Vol. 25(1), pp. 151-159.

Rojas, A. Sarmiento, E. (2012) Plan de intervención social, sanitaria y eficacia del tratamiento específico de parasitosis intestinales en el Centro educativo Semira Bayas y el colegio técnico Dr. Gabriel Sánchez Luna de la provincia del Cañar”. Tesis de grado obtenido no publicado. Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador.

Salinas, J. Vildozola, H. (2007) Infección por Blastocystis. *Rev. Gastroenterol Perú*, Vol. 27, pp. 264-274.

Scott, M. (2008, 7 de octubre) Ascaris lumbricoides: Una revisión de su epidemiología y su relación con otras infecciones. *Rev. Ann Nestlé*. Vol. 66(1), pp. 7–22.

Tay, J. Sánchez, J. Sánchez D. (2010) Helmintiasis y cisticercosis. México. UNAM.

Thrusfield M. (2007) *Veterinary Epidemiology*. Third Edition. Blackwell Publishing. Estados Unidos.

Vázquez Tsuji, O. Campos, T. (2009, enero-junio) Giardiasis. La parasitosis más frecuente a nivel mundial. *Rev. del Centro de Investigación*, Vol. 8 (31), pp. 75-90.

Páginas Web:

Beltamirano, J. Entamoeba histolytica. 2008. Descargado el 15 de enero del 2014, de www.pediatriasantafe.com.ar/pdf_graficos/.../entamoeba_histolytica.pdf

Sitio Web: UNAM, Ascariasis o ascariosis. Descargado el 24 de mayo del 2014, <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/ascariosis.html>.

García, H. Matus, J. Estadística descriptiva e inferencial I. 2012. Descargado el 18 de abril del 2014, http://www.conevyt.org.mx/bachillerato/material_bachilleres/cb6/5sempdf/edin1/edin1_f1.pdf

ANEXOS

ANEXO 1

Métodos de diagnóstico.

Coprológico directo:

- Colocar una gota de solución salina (SS) al 0,9% en el tercio del lado izquierdo de la lámina y en el tercio del lado derecho colocar una gota de lugol.
- Mezclar con un aplicador de madera 2 mg de materia fecal en cada preparación.
- Cubrir con laminillas y observar al microscopio de luz con objetivos de 10X y 40X.

Kato Katz:

- Tamizar la materia fecal a través de un cedazo o malla.
- Colocar 50 mg de heces, utilizando un molde calibrado en una lámina porta objeto (Kato-Katz), cubrir con papel celofán impregnado en solución de Kato.
- Ejercer presión para obtener una distribución uniforme de la materia fecal.
- Antes del examen microscópico con objetivo 10X, dejar secar a temperatura ambiente por 30 minutos en la oscuridad. Si no se utiliza el molde calibrado tomar aproximadamente una cantidad suficiente de heces y realizar la técnica de Kato siguiendo el mismo procedimiento.

Ziehl–Neelsen modificado (Kinyoun):

- Mezclar en un envase 1 g de heces con 5 ml de formol al 10%.
- Filtrar a través de una gasa y centrifugar por 10 minutos a 2500rpm.
- Decantar el sobrenadante y realizar un extendido con el sedimento, el cual se fija con metanol por 30 minutos y se cubre con fucsina fenicada por 25 minutos. Hacer este paso en una campana de seguridad.
- Lavar con agua y cubrir con azul de metileno por 5 minutos.
- Volver a lavar con agua y observar al microscopio con objetivo de inmersión (Manual de parasitología, 2012).

ANEXO 2

Métodos de concentración. Método de Ritchie o centrifugación con formol-éter

- Mezclar aproximadamente 2 g de la muestra, con 10 ml de solución salina (Cloruro de sodio 0.9%) hasta que quede líquida.
- Filtrar por una gasa doble, con la ayuda de un embudo a un tubo de centrifuga de 15 ml.
- Centrifugar la mezcla a 1500-2000 rpm por 2 minutos. Decantar el sobrenadante.
- Agregar 5 ml de solución salina y diluir el sedimento, centrifugar como antes y decantar. Repetir este paso hasta que el sobrenadante este transparente.
- Agregar al sedimento 10 ml de formol al 10%, mezclar bien y dejar reposar por 10 minutos.
- Agregar 5 ml de éter de petróleo, tapar el tubo y mezclar fuertemente durante 30 segundos.
- Centrifugar a 15000 rpm durante 2 minutos. Se forman 4 capas: un sedimento que contiene los huevos, quistes, larvas, etc.; una capa de formol, un anillo con restos de materias fecales y el éter en la superficie.
- Con cuidado decantar las tres fases y dejar el sedimento.
- Agregar conservador, o una pequeña cantidad de líquido y preparar frescos con lugol (Manual de parasitología, 2012).

ANEXO 3

Métodos de concentración. Método de Faust o de flotación con sulfato de Zinc

- Diluir 1 g de materia fecal en 10 ml de agua destilada y filtrar a través de una gasa cuádruple.
- Centrifugar a 2500 rpm durante 1 minuto.
- Decantar el sobrenadante. Si la muestra es muy grasosa repetir el centrifugado cambiando de agua y mezclando nuevamente.
- Mezclar el sedimento con 3.4 ml de sulfato de zinc al 33%.
- Completar con el sulfato de zinc hasta que este a 1 cm del borde del tubo y centrifugar a 2500 rpm durante 1 minuto.
- Colocar cuidadosamente en una gradilla y recoger el sobrenadante con un asa platino o una pipeta y llevar al portaobjetos. También puede elevar el nivel del líquido hasta formar un menisco, añadiendo sulfato de zinc por las paredes del tubo, para no alterar la película superficial. En este caso colocar un cubreobjetos sobre el menisco y dejar en esta posición durante 10 minutos, de modo que en su cara inferior quede adherida la gota que contiene, huevos, larvas y quistes.

Nota: el contacto prolongado con el sulfato de zinc puede deformar los quistes y dificultar su identificación, por lo tanto las preparaciones deben ser examinadas lo antes posible terminada la concentración (Manual de parasitología, 2012).

ANEXO 4

Métodos de conservación. Conservadores

a. AFA

Mezclar 10 ml de formol al 40%, 50 ml de alcohol etílico al 96%, 5 ml de ácido acético glacial y 45 ml de agua destilada. Mezclar y colocar directamente en la muestra.

b. Formol 10%

Diluir 10 ml de formol en 90 ml de agua destilada. Colocar a la muestra directamente o al sedimento de la concentración.

c. SAF

Mezclar 1.5 g de acetato sódico, 2 ml de ácido acético glacial, 40 ml de formol al 40% y 9 ml de agua destila. Mezclar y colocar directamente a las heces.

d. MIF

Solución madre:

- Mezclar 250 ml de agua destilada, 200 ml de merthiolate 1:1000, 25 ml de formol concentrado y 5 ml de glicerina.

Lugol:

- Disolver 1.5 g de cristales de yodo y 4 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua destilada. Se aconseja disolver primero el yoduro de potasio en agua destilada y luego agregar los cristales de yodo, agitando lentamente hasta que se disuelvan; finalmente se filtra.

Preparación de MIF:

- Mezclar 2.35 ml de la solución madre con 0.14 ml de lugol fresco y filtrar.
- Tomar 1 g de muestra y agregar 10 ml de MIF. Mezclar con un aplicador o palillo y se pueden conservar las muestras por un año o más.

e. Alcohol-glicerina para parásitos adultos.

Alcohol al 70% (v/v) con un 5% de glicerina: Mezclar 5 ml de glicerina con 95 ml de alcohol 70%.

- Lavar el parásito con solución salina, introducir en agua entre 60-63°C.
- Sumergir en el conservador donde se mantendrá por largo tiempo (Manual de parasitología, 2012).

ANEXO 5

Métodos de fijación. Fijadores

a. PVA

- Mezclar 62.5 ml de solución saturada de cloruro de mercurio (Mezclar 140 g de HgCl₂ con 1000 ml de agua destilada. Calentar y mezclar; enfriar y decantar); con 31 ml de alcohol etílico al 95%, 1.5 ml de glicerina y 5 ml de ácido acético glacial.
- Agregar 5 g de alcohol polivinílico calentando a 75°C, hasta que la suspensión se aclare. Con ella se hacen los siguientes preparados:
- En placa: mezclar 3 gotas de fijador con materia fecal y dejar secar. Se puede guardar 2 meses para coloración posterior.
- En frasco: Mezclar una parte de heces con 3 partes del fijador y conservar tapado.

b. Albúmina de Mayer

- Mezclar cuidadosamente 1 parte de clara de huevo con 1 parte de glicerina. Eliminar la espuma formada mediante filtración.
- Colocar albúmina de Mayer en la placa a usarse dejar secar y colocar las heces.

c. Fijador Schaudinn

- Disolver 2 partes de solución saturada de cloruro de mercurio, 1 parte de alcohol etílico y 5 ml por cada 100 ml de solución de ácido acético glacial.
- Hacer el frotis de materia fecal, añadir fijador Schaudinn y dejar secar de 10-20 min a 50°C o una hora a temperatura ambiente (Manual de parasitología, 2012).

ANEXO 6

Métodos de coloración. Técnica de tinción tricrómica

Se debe usar con fijador Schaudinn o PVA (ANEXO 4).

- a. Colorante tricrómico:** Mezclar 0.6 g de cromotropo 2R, 0.15 g de verde claro, 0.15 g de verde brillante FCF, 0.7 g de ácido fosfotúngstico, 1 ml de ácido acético glacial con 100 ml de agua destilada.

Nota:

- Añadir el ácido acético a los ingredientes secos, agitar y dejar reposar 30 minutos.
- Luego agregar agua y agitar. El color debe ser púrpura intenso, casi negro.

- b.** El procedimiento cuando se usa fijador Schaudinn es el siguiente:

- Hacer un frotis de la materia fecal.
- Sin dejarla secar colocar fijador Schaudinn. Fijar durante 10 minutos a 50°C o una hora a temperatura ambiente.
- Una vez fijado, sumergir en diferentes soluciones sin enjuagar entre cada paso.
- Alcohol yodado, durante 1 minuto.
- Alcohol al 70%, durante 1 minuto, repetir 2 veces este paso.
- Colocar en el colorante tricrómico, de 2 a 8 minutos.
- Lavar en alcohol al 90% acidificado (colocar 1 gota de ácido acético por 10 ml de alcohol), durante 10-20 segundos o hasta que el frotis casi no suelte colorante.
- Enjuagar en alcohol al 95%, repetir 2 veces.
- Sumergir en xilol, durante 1 minuto.
- Montar con bálsamo o su equivalente, colocar un cubreobjetos y observar en el microscopio.

- c.** Si se utiliza PVA como fijador, la técnica es la siguiente:

- Hacer un frotis de materia fecal.
- Fijar con PVA como se describió anteriormente (ANEXO 4).
- Una vez fijado, sumergir en diferentes soluciones sin enjuagar entre cada paso.
- Alcohol yodado, durante 10 minutos.
- Alcohol al 70%, de 3 a 5 minutos por 2 veces.
- Colocar en el colorante tricrómico de 6 a 8 minutos.
- Lavar con alcohol al 90% acidificado, durante 10-20 segundos o hasta que el frotis casi no suelte colorante.

- Enjuagar con alcohol al 95%.
- Repetir el alcohol al 95%, durante 5 minutos.
- Sumergir en xilol, de 5 a 10 minutos.
- Montar con bálsamo o su equivalente, colocar un cubreobjetos y observar en el microscopio.

Nota: El citoplasma de los protozoos se observa de color azul verdoso con tintes púrpura. La cromatina, los cuerpos cromatoides, los eritrocitos y las bacterias, se ven de color rojo o purpura. El fondo de la preparación es verde. Los huevos y larvas de tiñen de rojo (Restrepo y Botero, 2008).

ANEXO 7

Métodos de coloración. Técnica con hematoxilina férrica de Heidenhain

Se debe usar fijador Schaudinn o fijador PVA (ANEXO 4).

Para comenzar con la tinción se deben preparar los siguientes reactivos:

- a. **Mordiente:** Preparar con solución al 5% de sulfato férrico amoniacal; seleccionando los cristales de color violeta.
 - Disolver la sal al calor y filtrar antes de usarla; esta solución se debe preparar cada vez, inmediatamente antes de su uso. Los cristales del sulfato férrico amoniacal se deben conservar en nevera.
- b. **Colorante:** Mezclar 0.5 g de hematoxilina (en cristales), 10 ml de etanol con 90 ml de agua destilada.

Nota: Disolver la hematoxilina en alcohol caliente y luego agregar agua igualmente caliente. Después de enfriar, filtrar.
- c. **Decolorante:** se utiliza el mismo mordiente, diluido en agua entre 0.5 y 2%.
- d. Cuando se usa fijador Schaudinn, la técnica es la siguiente:
 - Hacer un frotis delgado de las materias fecales o del material para el estudio. Si la muestra es dura diluir en solución salina, si es muy líquida se hace la preparación, con aplicación previa de albúmina de huevo o suero sanguíneo al portaobjetos.
 - Sin dejarla secar, fijar inmediatamente con fijador Schaudinn. Calentar a 50°C durante 10 a 20 minutos o dejar 1 hora a temperatura ambiente.
 - Una vez fijado, sumergir en diferentes soluciones sin enjuagar entre cada paso.
 - Alcohol yodado, de 5 a 10 minutos.
 - Alcohol al 70%, durante 3 minutos.
 - Alcohol al 50%, durante 3 minutos.
 - Alcohol al 30%, durante 3 minutos.
 - Agua destilada, durante 1 minuto.
 - Mordiente, durante 15 minutos.
 - Agua destilada, durante 1 minuto.
 - Hematoxilina, de 1 a 12 horas.
 - Agua destilada, durante 1 minuto.

- Decoloración: colocar el frotis en el decolorante el tiempo requerido de acuerdo a la experiencia y controlando al microscopio, para observar las estructuras teñidas adecuadamente.
- Lavar con agua destilada en varios cambios hasta quitar todo el color amarillo
- Deshidratar pasando por alcoholes al 30%, 50%, 70%, 90%, 95%, durante 5 minutos en cada uno.
- Sumergir en xilol, durante 3 minutos.
- Montar con bálsamo o su equivalente, colocar un cubreobjetos y observar en el microscopio.

e. Si se emplea PVA como fijador, la técnica es la siguiente:

- Hacer un frotis delgado de la materia fecal.
- Fijar la muestra con PVA, como se describió anteriormente.
- Una vez fijado, sumergir en diferentes soluciones sin enjuagar entre cada paso.
 - Alcohol yodado, durante 20 minutos.
 - Alcohol al 50%, durante 3 minutos.
 - Agua destilada, durante 10 minutos.
 - Mordiente, de 8 a 12 minutos.
 - Agua destilada, dos veces.
 - Hematoxilina, de 8 a 12 horas.
 - Agua destilada, enjuagar dos veces.
- Decoloración: realizar con solución acuosa saturada de ácido pícrico, de 15 a 20 minutos, o de acuerdo a la experiencia y controlando al microscopio, para observar las estructuras teñidas adecuadamente.
- Enjuagar varias veces con agua destilada por 30 minutos.
- Enjuagar en alcohol al 70%, durante 10 minutos.
- Colocar en alcohol al 95%, durante 10 minutos.
- Sumergir en xilol, durante 10 minutos.
- Montar con bálsamo o su equivalente, colocar un cubreobjetos y observar en el microscopio.

En la coloración con hematoxilina, las estructuras se observan de color gris oscuro y los núcleos, cuerpos cromatoides, eritrocitos y bacterias de color negro (Restrepo y Botero, 2008).

ANEXO 8

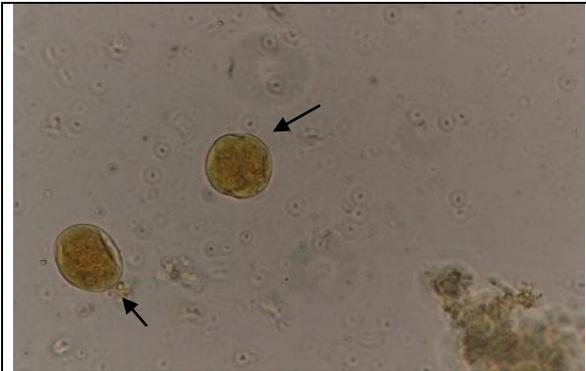
Montaje de placas. Preparaciones selladas en porta-objetos

En un porta-objetos se coloca una gota de la preparación de heces con MIF, y se coloca una laminilla cubreobjeto. Se sella con vaselina o barniz de uñas, aplicando generosamente en los bordes del cubreobjeto (Restrepo y Botero, 2008).

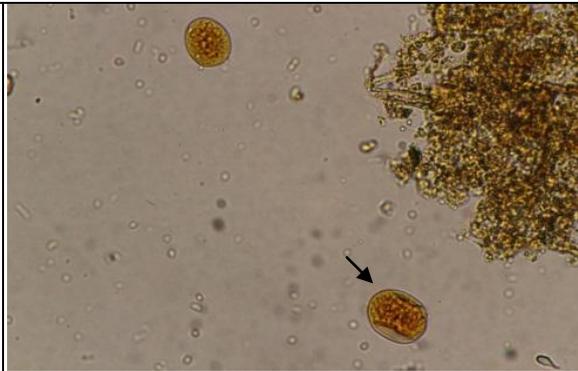
ANEXO 9

Atlas de parasitología

Lámina 1-PROTOZOOS, preparación en MIF. Aumento 40X



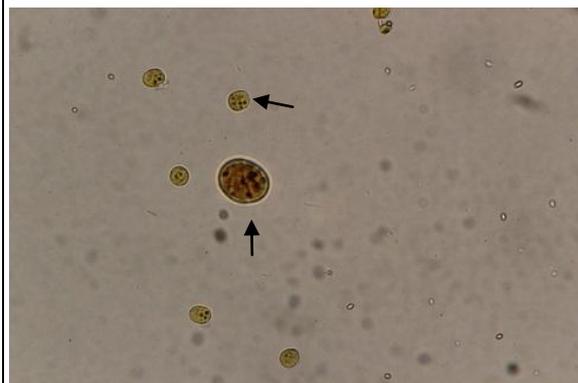
Quiste de *E. coli*. Nótese los múltiples núcleos.



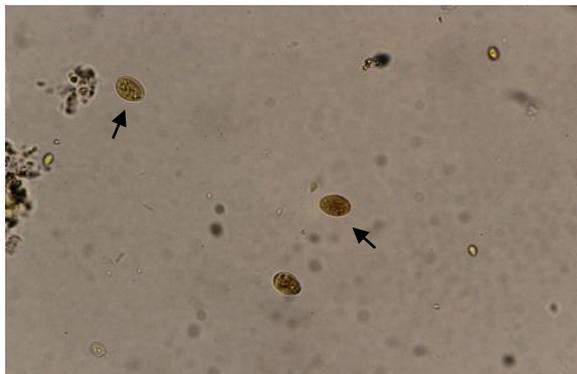
Quiste de *E. coli*. Nótese los múltiples núcleos.



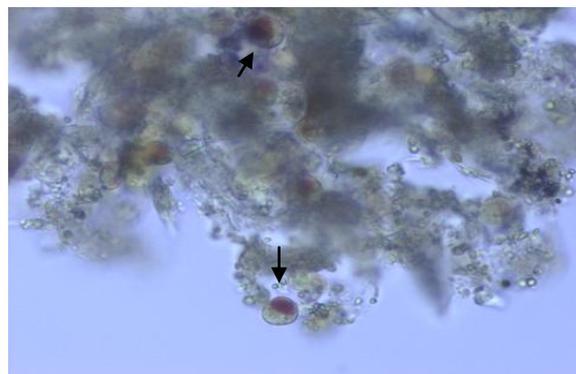
Quiste de *E. nana*.



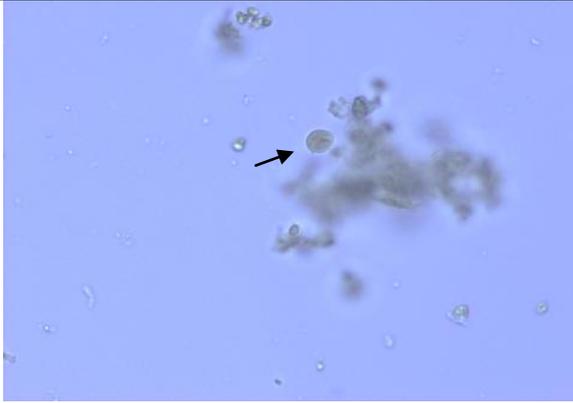
Quiste de *E. coli* y *E. nana*. Nótese las diferencias de tamaño.



Quiste de *G. lamblia*.



Quiste de *I. butschlii*. Nótese la vacuola característica.



Quiste de *C. mesnilli*, junto restos vegetales, con su característica forma de limón.



Quiste de *E. histolytica*.

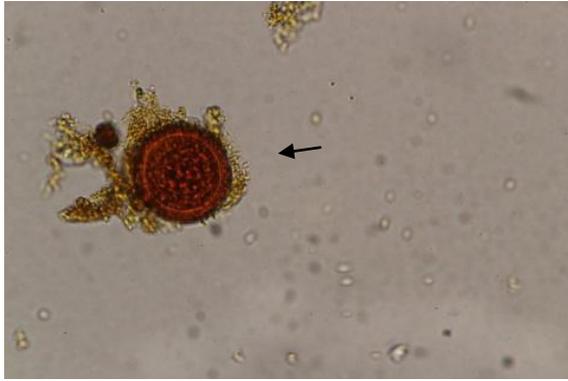


Quiste de *G. lamblia*, preparación en MIF. Aumento 100x. Nótese las estructuras internas

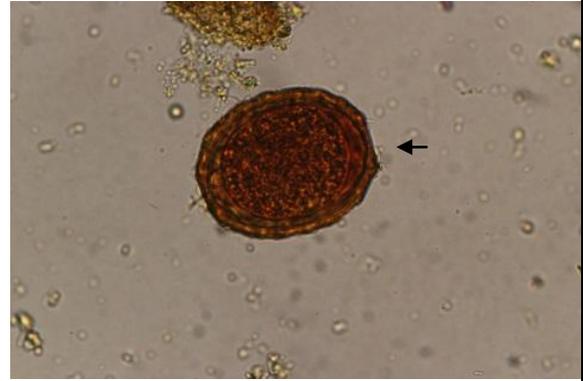
Elaboración: Celi, S. (2014)

Lámina 2-HELMINTOS.

a. Helmintos, preparación en lugol. Aumento 40x



Huevo de *T. solium*, preparación en lugol.



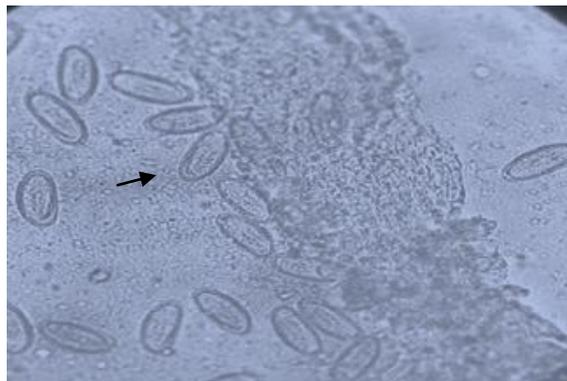
Huevo de *A. lumbricoides*.



Larva rhabditiforme de *S. stecoralis*.



Larva rhabditiforme de *S. stecoralis*.



Huevo de *E. vermicularis* con un lado aplanado.
Cortesía: Andrea Jaramillo, UTPL.

Elaboración: Celi, S. (2014)

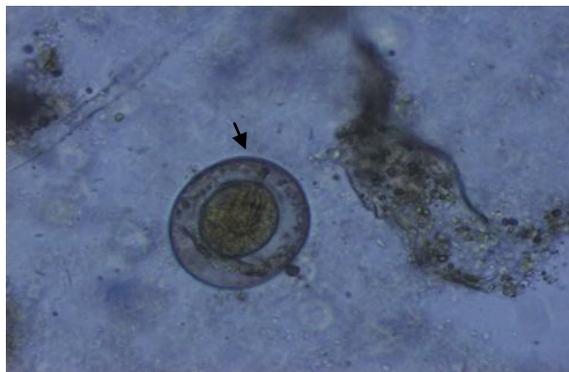
b. Helmintos, preparación en MIF.



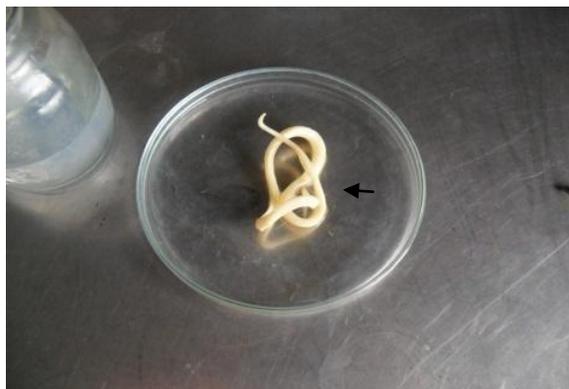
Larva filariforme de *S. stecoralis*. Aumento 10x.
Nótese el tamaño



Larva filariforme de *S. stecoralis*. Aumento 40x



Huevo de *H. nana*. Nótese los ganchos. Aumento 40x



Hembra adulta de *Ascaris lumbricoides*.

Elaboración: Celi, S. (2014)

ANEXO 10

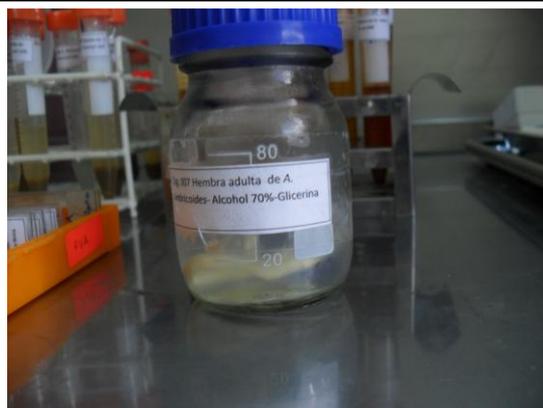
Anexos fotográficos del banco de parásitos



Parásitos conservados en formol 10%



Parásitos conservados en MIF



Hembra adulta de *A. lumbricoides*
conservada en alcohol 70%-glicerina
Elaboración: Celi, S. (2014)



Placas semipermanentes de parásitos
intestinales