

ESTUDIO COMPARATIVO DE TECNICAS PARA DIAGNOSTICO COPROLOGICO

DAVID BERSH E. *

INTRODUCCION

En la teoría general sobre diarrea, al analizar el papel del ambiente en la diarrea se señala que el punto de partida de este factor está en los agentes etiológicos, que pueden ser, por lo menos, virus, bacterias, hongos o parásitos.

La mayor o menor influencia que tienen estos diferentes agentes en la morbilidad diarreica es parcialmente conocida, pues se admite que las variaciones de una región a otra usualmente no son bien conocidas y se supone que éstas son significativas dadas las distintas eventualidades ecológicas, epidemiológicas, ambientales, de servicios de salud y de comportamiento que se registran de una comunidad a otra.

Es evidente que un mejor conocimiento de la epidemiología de tales agentes, permitiría intervenciones más atinadas en los programas de control de las diarreas, dadas las diferencias que hay para controlar uno u otro agente.

En este estudio se circunscribe, la atención a los parásitos cuyo diagnóstico por el laboratorio es relativamente fácil y además factible de realizar en nuestro medio. Nuestro propósito es llamar la atención sobre algunos aspectos que limitan la efectividad del diagnóstico de laboratorio y destacar algunas nuevas técnicas que elevan apreciablemente la capacidad de diagnóstico. La importancia de lo anterior radica en lo siguiente:

Existe una buena red de laboratorios en la región que permiten al médico obtener estudios coprológicos. El médico tiende a dar

una alta confiabilidad a los resultados de laboratorio y por ello apoya en buena parte sus decisiones en dichos resultados; por lo tanto si estos son inexactos la conducta que asuma el médico frente al paciente puede ser equivocada y los costos a cargo del paciente o de la institución de salud se aumentarán innecesariamente.

Algunas técnicas como la de Kato K. muestran una apreciable diferencia en el rendimiento diagnóstico; su costo es reducido y su complejidad mínima, lo cual hace posible su utilización en el más modesto laboratorio; igualmente ocurre con las técnicas de concentración.

En este estudio tratamos de mostrar las diferencias que existen y las ventajas que pueden obtenerse al usarlos. Estas ventajas pueden constituir un aporte importante en el control de las diarreas.

MATERIAL Y METODO

En 81 personas de zona rural cuyas características por edad y sexo se describen más adelante, se tomaron muestras de materias fecales las cuales se recolectaron directamente en el campo y se transportaron rápidamente al laboratorio. Una parte de las muestras se transportó en MIF y otra parte sin ningún aditivo.

En todas las muestras se practicaron los siguientes exámenes:

- Observación directa con lugol.
- Observación con la técnica de Kato Katz.
- Concentración MIF formol.
- Coloración con hematoxilina férrica.

* Director de la División de Salud del Comité de Cafeteros del Quindío.

Se anexa el protocolo de cada una de las técnicas empleadas.

PROTOCOLOS

Método de Kato Katz

Materiales:

1. Celofán humedecible de espesor mediano (40 x 50 m.) cortado en tiras de 25 x 30 mm.
2. Solución de glicerina verde de malaquita:
100 ml. de glicerina pura.
100 ml. de agua.
1 ml. de verde de malaquita 3 por ciento.

3. Las tiras de papel celofán deberán sumergirse en la solución por lo menos 24 horas antes de usarse.

Procedimiento:

1. Colóquese de 30 - 70 mg. de materia fecal en una lámina.

2. Cúbrase con una tira de papel celofán previamente sumergida en la solución: hágase presión sobre ésta (se puede usar tapón de hule No. 5) para extender las heces en una capa homogénea.

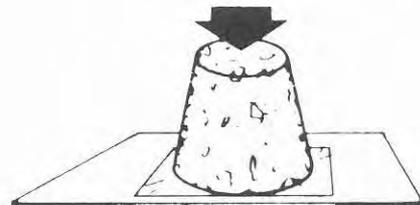
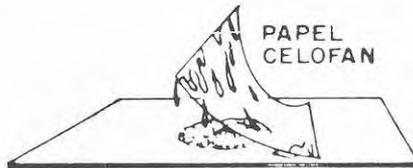
3. Déjese a la temperatura ambiente 1 hora (o de 20 a 30 minutos en una incubadora seca a 40 grados centígrados) con esto la muestra se seca y se aclara. (No se deje secar en exceso, pues se forman burbujas de gas y los huevecillos se envuelven en las burbujas de aire).

4. Examínese la muestra con bajo aumento 10x. Queda transparente con fondo verde.

Concentración MIF (Mertiolato - Yodo - Formol).

Reactivos:

- A. Solución "MIF" (estable).
Formol 5 ml.
Tintura de mertiolate (1.1000) 40 ml.
Glicerina 1 ml.
Agua destilada 50 ml.
Se conserva en frasco ambar.



B. Solución de yodo de lugol
(Debe prepararse cada 3 semanas).
Cristales de yodo 5 gr.
Yoduro de potasio 10 gr.
Agua destilada 100 ml.
Se disuelve el yoduro de potasio en el agua destilada, se añaden lentamente los cristales de yodo y se agita hasta disolución completa. Se filtra. Se conserva en frasco ambar.

Procedimiento:

Se miden 5 ml. de solución A en un frasco, se diluye un fragmento de heces (del tamaño de un frijol), se mezcla fuertemente, se filtra por dos capas de gasa.

Se recoge el filtrado en un tubo y añadimos 0.5 cm. de éter, se tapa el tubo y se agita fuertemente 30 segundos. Se centrifuga a 1.500 revoluciones por minuto de 3 a 5 minutos. Deben formarse 4 capas:

1. Capa de éter.
2. Tapón de restos fecales.
3. Capa de MIF.
4. Sedimento

Se decanta cuidadosamente las 3 capas superiores.

Al sedimento se añade una gota de solución de lugol (B). Se toma la parte superior del sedimento, se pasa a una lámina, se le coloca laminilla y se examina.

HEMATOXILINA FERRICA

Fijador de Shaudin

1. Cloruro de mercurio 45 grm.
2. Alcohol etílico 95% 310 ml.
3. Acido acético glacial 50 ml.
4. Glicerol 15 ml.
5. H₂O destilada 625 ml.

Colocar en un frasco 14 ml. de Shaudin, 1 ml. de heces, homogenizar bien.

Preparación de los extendidos fecales.

1. Agitar la muestra, dejar 5 segundos para que se asiente la arena y partículas pesadas.

2. Pasar a un tubo cónico de centrífuga hasta la mitad. Agregar agua hasta 15 ml. Filtrar a través de gasa. Pasar el contenido del filtrado al tubo centrífuga y centrifugar 4 minutos. Descartar el sobrenadante, agregar 2 ó 3 gotas de agua y centrifugar después de llenar el tubo 5 minutos. Descartar el sobrenadante y al sedimento agregar 2 gotas de albúmina bovina, mezclar y hacer un extendido en la lámina en forma pareja.

Dejar secar 1 hora hasta obtener un lustre satinado.

Se deja en OH 70% yodado de 1 día para otro.

OH 50% 3 minutos.

H₂O del grifo 3 minutos.

Mordiente de alumbre de Fe 1 hora.

H₂O del grifo 1 minuto.

Hematoxilina 2 horas.

H₂O del grifo 1 minuto

Acido pícrico 6 minutos.

H₂O del grifo 30 minutos.

Alcohol 30%, 15 minutos.

Alcohol 50%, 15 minutos.

Alcohol 70%, 30 minutos.

Alcohol 85%, 15 minutos.

Alcohol 90%, 30 minutos.

Alcohol 100%, 15 minutos o,

Alcohol de 90%, 1 hora.

Xilol 22 horas.

El extendido no debe secarse en ningún momento.

Se le agrega una gota de xilol y una gota de entellán, se le coloca la laminilla y se examina con objetivo de inmersión.

Las observaciones al microscopio las efectuó una sola persona con un procedimiento que le impidiera correlacionar su diagnóstico con las distintas técnicas en la misma muestra.

RESULTADOS

El cuadro No. 1 presenta la muestra distribuida por edad y sexo de las personas a quienes se practicó los exámenes.

ESTUDIO COMPARATIVO DE TECNICAS PARA DIAGNOSTICO COPROLOGICO

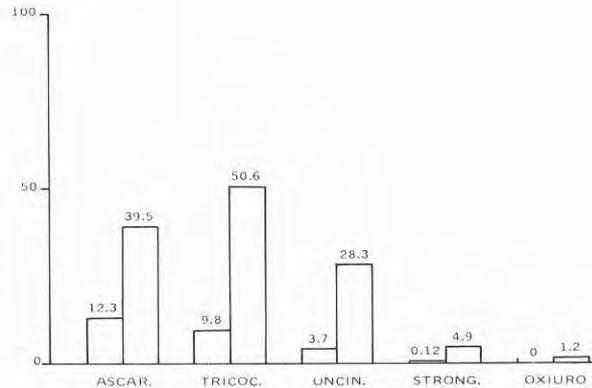
CUADRO No. 1

SEXO \ EDAD	EDAD				TOTAL
	- 1	1 - 4	5 - 14	15 y más	
H	1	8	12	22	43
M	0	3	12	23	38
TOTAL	1	11	24	45	81

Examen directo vs. técnica de Kato K. para el diagnóstico de helmintos

La técnica de Kato es básicamente utilizada para huevos de helmintos; el examen de un volumen mayor de materias fecales en cada observación, incrementa apreciablemente el rendimiento diagnóstico. El cuadro No. 2 y el gráfico No. 1 permiten comparar los resultados. Por ejemplo, mientras que en el examen directo se encontró que el 12.3% de las personas tenían huevos de áscaris, al usar la técnica de Kato con las mismas muestras, el mismo observador encontró que la positividad fue del 39.5%. Esto significa que con dicha técnica el diagnóstico aumentó su eficacia en un 68.9%. El resultado es particularmente notable si se tiene en cuenta la facilidad con que en general se reconocen los huevos de áscaris. El cuadro No. 3 resume el incremento de la efectividad diagnóstica frente a los diferentes parásitos. La diferencia de porcentajes no es explicable por el simple azar según las pruebas estadísticas efectuadas.

GRAFICO No. 1



CUADRO No. 3

INCREMENTO DEL DX CON KATO	ASCARIS	TRICOC.	UNCIN.	STRONG.	OXIURO
	68.9	80.7	86.9	97.5	100

Examen directo vs. técnica de concentración y técnica de coloración con hematoxilina férrica para el diagnóstico de protozoarios

El cuadro No. 4 muestra los porcentajes de positividad observados para los distintos parásitos en el grupo de pacientes examinados según la técnica empleada. El gráfico No. 2 presenta los mismos resultados en forma esquemática y en los cuadros Nos. 5 y 6 se aprecia el incremento de efectividad de las técnicas de concentración y hematoxilina en relación con el examen directo con lugol.

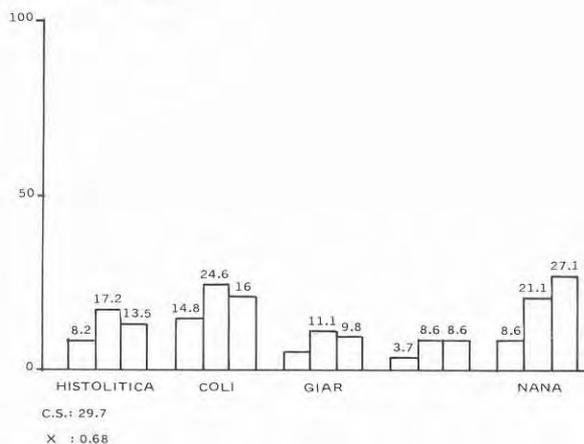
CUADRO No. 2

Método	ASCARIS		TRICOC.		UNCIN.		STRONG.		OXIURO	
	NEG.	POS.	NEG.	POS.	NEG.	POS.	NEG.	POS.	NEG.	POS.
	DIRECTO	87.7 o/o	12.3 o/o	90.2 o/o	9.8 o/o	96.3 o/o	3.7 o/o	99.8 o/o	0.12 o/o	0 o/o
		10		8		3		1		0
KATO K.	60.5 o/o	39.5 o/o	49.4 o/o	50.6 o/o	71.7 o/o	28.3 o/o	95.1 o/o	4.9 o/o	98.8 o/o	1.2 o/o
		32		41		23		4		1

CUADRO No. 4

	HISTOLITICA		COLI		GIAR		IODA		NANA	
	NEG.	POS.	NEG.	POS.	NEG.	POS.	NEG.	POS.	NEG.	POS.
DIRECTO - LUGOL	91.8 o/o	8.2 o/o 6	85.2 o/o	14.8 o/o 14	95.1 o/o	4.9 o/o 4	96.3 o/o	3.7 o/o 3	91.4 o/o	8.6 o/o 7
CONCENTRACION	82.8 o/o	17.2 o/o 14	75.4 o/o	24.6 o/o 20	88.9 o/o	11.1 o/o 9	91.4 o/o	8.6 o/o 7	78.9 o/o	21.1 o/o 22
HEMATOXILINA	86.5 o/o	13.5 o/o 11	84 o/o	16.0 o/o 13	90.2 o/o	9.8 o/o 8	91.4 o/o	8.6 o/o 7	72.9 o/o	27.1 o/o 22

GRAFICO No. 2



Al comparar las diferencias de los resultados en forma estadística se encontró una diferencia significativa la cual quiere decir que dichas diferencias no son explicables por el simple azar.

DISCUSION

La técnica de Kato K. es económica y toma prácticamente el mismo tiempo que un examen directo. Su elevado poder diagnóstico hace obsoleta la técnica directa pues de acuerdo con los resultados si existe parasitismo un buen porcentaje de los casos reportados negativos para helmintos pueden ser positivos cuando se examinan en la técnica de Kato.

CUADRO No. 5

INCREMENTO DE DX POR CONCENTRACION	HISTOLITICA	COLI	GIAR	IODA	NANA
	52 o/o	40 o/o	56 o/o	57 o/o	59 o/o

CUADRO No. 6

INCREMENTO DE DX POR HEMATOXILINA	HISTOLITICA	COLI	GIAR	IODA	NANA
	39.0 o/o	7.5 o/o	50 o/o	57 o/o	68.0 o/o

El diagnóstico de amibiasis ofrece mayores problemas que el diagnóstico de otros parásitos. En general se tiene la impresión de un exceso de diagnóstico de E. Histolytica aún con la técnica directa. Cuando el diagnóstico se refina por entrenamiento del observador, estandarizándolo por medio de exámenes comparados con placas coloreadas con hematoxilina férrica y otras teñidas simplemente con lugol y estableciendo una medición cuidadosa de los parásitos, entonces el diagnóstico se ajusta más a la realidad. En estas condiciones es evidente el incremento diagnóstico al usar las técnicas de concentración y de hematoxilina. Esta, que es mucho más prolongada y costosa hace más seguro el diagnóstico, y aquella más rápida y económica aumenta el

ESTUDIO COMPARATIVO DE TECNICAS PARA DIAGNOSTICO COPROLOGICO

rendimiento cuando el observador se ha entrenado en el reconocimiento de la A. Histolytica. La mayor seguridad diagnóstica es de gran importancia tanto en el manejo clínico como epidemiológico del problema de las diarreas.

CONCLUSIONES

Las técnicas de Kato K. para huevos de helmintos y de concentración para amebas

son mucho más efectivas que las técnicas de rutina las cuales deben ser sustituidas para obtener no solo una mejor relación costo-beneficio en el uso de recursos de salud sino para lograr un mejor manejo de los pacientes y de las condiciones epidemiológicas.

Esto es útil en el laboratorio privado y muy particularmente en los laboratorios de hospitales y centros de salud donde se procesan grandes volúmenes de muestras.