



Parasitismo intestinal en la población infantil menor de 15 años atendida en el Servicio de Consulta Externa del Hospital de La Misericordia y evaluación de métodos para su diagnóstico

Paula Andrea Espinal*, estudiante de pregrado de la Facultad de Bacteriología; Myriam Consuelo López**, Profesora Asociada, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina; Gladys de Durán*, Profesora del Departamento de Bacteriología; Ligia Inés Moncada**, Profesora Asociada, Departamento de Microbiología y Parasitología, y Pilar Delgado*, Profesora del Departamento de Bacteriología. (*) Universidad de los Andes. (**) Universidad Nacional de Colombia.

RESUMEN

SUMMARY

El presente trabajo tuvo como objetivos evaluar la prevalencia de parasitismo intestinal en niños menores de 15 años y comparar los métodos para su diagnóstico. Se procesaron muestras de materia fecal de cien niños menores de 15 años atendidos en el servicio de Consulta Externa del Hospital Infantil Universitario de La Misericordia. Las muestras fueron evaluadas por el método directo y por el método de concentración. Además, se hicieron coloraciones especiales para *Cryptosporidium* (Z-N modificado) y microsporidios (trícromica de Ryan y blanco de calcoflúor). Se encontró una prevalencia de parasitismo intestinal de 77%; 37 de los 77 niños parasitados (48%) tenían al menos un parásito patógeno. Los parásitos más frecuentes fueron: *B. hominis* (51%), *Giardia intestinalis* (32%), *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* (28% cada una). La sensibilidad del método de concentración (96%) fue mayor que la del examen directo (84%) siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Las técnicas empleadas para la detección de microsporidios mostraron alta sensibilidad pero baja especificidad: de 32 muestras positivas para calcoflúor solamente seis lo fueron con la coloración tricrómica de Ryan. Las principales conclusiones de este trabajo son: 1. La prevalencia de parasitismo intestinal fue alta; 2. El método de concentración es más sensible que el examen directo; 3. idealmente el directo y el concentrado deberían realizarse secuencialmente y 4. es necesario mejorar la especificidad de las técnicas para detección de microsporidios.

In order to assess the prevalence of intestinal parasitism in children under 15 years and compare diagnostic methods, 100 fecal specimens from children attended in the outpatient clinic of La Misericordia Hospital in Bogotá were examined. The samples were processed by direct examination and by the Ritchie-Frick concentration technique. Special staining methods such as the modified Ziehl-Neelsen technique for *Cryptosporidium* oocysts, Ryan's trichrome stain and calcofluor white for microsporidia were also performed. The prevalence of intestinal parasitism among this group was 77%; 37 of the 77 (48%) parasitized children were infected with at least one pathogenic parasite. The most frequent parasites were: *B. hominis* (51%), *Giardia intestinalis* (32%), *Entamoeba coli* and *Endolimax nana* (28% each). The sensitivity of the concentration method (96%) was greater than that of the direct examination (84%); these difference was statistically significant ($p < 0.05$). The sequential use of the direct examination and the concentration method increased the sensitivity to more than 90% for the great majority of the parasites. The techniques used for the detection of microsporidia showed a high sensitivity but a poor specificity: of 32 positive samples by the calcofluor white stain, six were positive by Ryan's trichrome stain.

INTRODUCCIÓN

Actualmente las parasitosis intestinales se encuentran entre las infecciones

humanas de mayor prevalencia en el mundo, especialmente en los países en vía de desarrollo porque sus condiciones de higiene y saneamiento ambiental son deficientes. Grandes grupos de población carecen de servicios adecuados de acueducto y disposición de las excretas, lo cual permite la existencia de un ambiente propicio para su persistencia.

El impacto de las parasitosis es mayor y más severo en la población infantil con consecuencias tales como retardos en el crecimiento y en el desarrollo psicomotor, desnutrición, ocurrencia de enfermedad diarreica aguda con riesgo de deshidratación, mayor susceptibilidad a infecciones virales y bacterianas y disminución del rendimiento escolar.

Las parasitosis intestinales y sus efectos pueden ser controlados a nivel comunitario conociendo su epidemiología y a nivel individual realizando un adecuado diagnóstico y un tratamiento eficaz.

El diagnóstico de las parasitosis intestinales en nuestro medio se establece en general por el hallazgo de formas parasitarias en el examen

directo de materia fecal. Sin embargo, también puede realizarse por métodos de concentración que, de acuerdo con estudios previos, presentan una mayor sensibilidad (1,2).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio epidemiológico descriptivo, de prevalencia, de corte transversal con un componente experimental, analítico, consistente en la evaluación y comparación de métodos diagnósticos.

Se examinaron 100 muestras de materia fecal de niños entre 0 y 15 años que acudieron al servicio de consulta externa del Hospital de La Misericordia en el período comprendido entre noviembre de 1996 y enero de 1997 excluyendo a los niños que habían recibido algún tratamiento antiparasitario en los últimos 30 días o a quienes no se les realizó la encuesta de evaluación.

En el momento de recibir la muestra se realizó una encuesta clínico-epidemiológica a la madre. En la entidad hospitalaria (observador 1) se llevó a cabo el examen directo en solución salina y en coloración con lugol. Un segundo observador realizó dos métodos: 1. Examen directo, tanto en solución salina como en coloración con lugol (3,4), 2. Concentración por sedimentación según el método de Ritchie-Frick modificado en sus dos fases (formol (fase I) y formol-éter (fase II) (3,4). Adicionalmente, el segundo observador realizó coloraciones especiales: Coloración de Ziehl-Nielsen modificado para *Cryptosporidium* (5) y las coloraciones azul tricrómica modificada (Ryan) (6) y blanco de calcoflúor para microsporidios (7).

PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

La tabulación de la información se realizó en el programa Epi-info 5.1 (8).

Para el análisis de la información se utilizaron los siguientes metodologías estadísticas:

- Análisis descriptivo que incluyó determinación de: frecuencias, porcentajes, razones, realización de cuadros con variables simples y cruce de variables de interés en el estudio. Algunas de las variables analizadas fueron las siguientes: edad, sexo, motivo de consulta, presencia/ausencia de parásitos, prevalencia de parasitismo, capacidad de detección de los métodos empleados.

- Cuadros comparativos de las frecuencias de hallazgo de cada uno de los parásitos para cada uno de los métodos (directo y de concentración).

- Para cada uno de los exámenes realizados se determinó la sensibilidad definiendo ésta como el cociente del número de muestras encontradas positivas por ese método, para un determinado parásito, dividido por el número de muestras positivas para éste por cualquiera de los métodos.

- La concordancia en la identificación de los parásitos entre el examen directo realizado por el observador 1 y por el observador 2, como también entre éstos y el método concentrado incluyendo las dos fases separadamente, se estableció utilizando el índice de concordancia Kappa (9).

- Se plantearon hipótesis acerca de las diferencias entre métodos. Para esto se verificó previamente, mediante el programa Statgraf, la distribución normal de los datos encontrados por cada método, comprobando que los datos tenían dicha distribución, y la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Chi-cuadrado de Bartlett. A partir de esto el análisis de las hipótesis se efectuó aplicando la prueba t de Student para datos dependientes y paramétricos con un 95% de confiabilidad (10,11).

RESULTADOS

Cerca de la mitad de las muestras estudiadas provenían de pacientes

preescolares (1-4 años) y una tercera parte de ellas de niños entre 5 y 10 años. La distribución por grupos de edad y sexo de la población estudiada se encuentra en la tabla 1.

PARASITISMO INTESTINAL EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Los niños estudiados fueron evaluados previamente por un médico quien ordenó el examen coproparasitológico. De acuerdo con los motivos de consulta que se presentan en la tabla 2, la diarrea, seguida por el dolor abdominal, constituyeron los síntomas más frecuentes.

Tabla 1. Distribución por grupos de edad y sexo de la población estudiada.

EDAD	SEXO		TOTAL
	M	F	
Menores de 1	3	3	6
1-4	21	28	49
5-10	19	14	33
11-15	6	6	12
TOTAL	49	51	100

Las cien muestras estudiadas fueron evaluadas por métodos directo y de concentración. La prevalencia de parasitismo intestinal en la población estudiada fue de 77%. De los niños parasitados, el 48% (37/77) presentó al menos un parásito patógeno. Solamente en tres casos se encontró parasitismo por helmintos. En la tabla 3 se pueden observar los resultados de prevalencia obtenidos según cada uno de los métodos.

La prevalencia de parásitos intestinales según grupo de edad se encuentra en la tabla 4, en la cual se puede observar que *Blastocystis hominis* fue el más frecuente en todos los grupos de edad. Entre los patógenos predominó *Giardia intestinalis* en los grupos de 1-4 y de 5-10 años y *Entamoeba histolytica* en el grupo de 11-15 años. Debe destacarse también que la mitad de los niños en el grupo de 11-15 años estaban parasitados por *Entamoeba coli*.

De acuerdo con las prevalencias por sexo se encontraron diferencias importantes entre hombres y mujeres, siendo en todos los casos las prevalencias mayores en hombres excepto para *Blastocystis hominis*, como se observa en la tabla 5.

No se encontraron muestras positivas para *Cryptosporidium parvum* ni para *Cyclospora cayetanensis* en la coloración de ZN modificado. Al realizar las coloraciones especiales

para microsporidios se encontraron 32 muestras sugestivas de ser positivas mediante la coloración de calcoflúor y seis por la coloración azul tricrómica de Ryan. De todas estas muestras sugestivas solamente se pudo confirmar la presencia de microsporidios en una de ellas.

EVALUACIÓN DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE PARASITISMO INTESTINAL

Los valores de sensibilidad obtenidos para la identificación de parásitos por los métodos directo y de concentración se resumen en la tabla 6. La sensibilidad para la detección de cualquier parásito fue considerablemente mayor con el método de concentración (96%) que con el examen directo (84%). Se encontraron diferencias en los valores de sensibilidad para el diagnóstico de diferentes parásitos por un mismo método como también para la determinación de un mismo parásito por diferentes observadores y métodos.

En la tabla 7 se compara la sensibilidad del examen directo y el método de

concentración realizados por separado y cuando se emplean secuencialmente. Para todos los parásitos la sensibilidad del diagnóstico parasitológico aumenta notoriamente cuando se realizan el examen directo seguido por el concentrado y en la mayoría de los casos se alcanza una sensibilidad mayor del 90%.

En la tabla 8 se muestran los resultados de las pruebas *t* realizadas para comparar las diferencias en la capacidad de detección de cada uno de los parásitos intestinales entre los diferentes observadores y métodos. Estos resultados confirman que la sensibilidad del examen directo realizado por el observador 2 fue mayor que la del practicado por el observador 1, y que el método de concentración presenta mayor sensibilidad que el examen directo, tanto si se toman en conjunto los resultados obtenidos en las dos fases como si se compara con los resultados de cada una de las fases, siendo en todos los casos las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Al comparar la sensibilidad entre la fase I y la fase II del concentrado, se encontró una mayor sensibi-

Tabla 2. Motivo de consulta de la población estudiada.

MOTIVO DE CONSULTA	FRECUENCIA
Diarrea	31
Control	15
Dolor abdominal	12
Pérdida de apetito	9
Alergia	8
Cirugía (preparación)	7
Color pálido	5
Vómito	3
Asma	2
Infeción	2
Sinusitis	2
Anemia	1
Fiebre	1
Hepatitis	1
Prurito anal	1
TOTAL	100

Tabla 3. Parasitismo intestinal. Prevalencia en la población estudiada.

PARÁSITO	No. TOTAL *	Directo Observador 1	Directo Observador 2	Concentrado (Fase I o Fase II)	Concentrado FASE I	Concentrado FASE II
<i>A. lumbricoides</i>	1	0	1	0	0	0
<i>T. trichiura</i>	2	1	1	2	2	2
<i>E. histolytica</i>	8	5	4	1	1	0
<i>E. coli</i>	28	4	12	25	17	19
<i>E. nana</i>	28	0	12	26	17	25
<i>I. butschlii</i>	1	0	1	0	0	0
<i>G. intestinalis.</i>	32	6	22	26	24	25
<i>B. hominis</i>	51	13	28	45	40	36

*: Número de casos positivos por cualquier método.

Tabla 4. Prevalencia de parásitos intestinales según grupo de edad.

EDAD	N	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. nana</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Blastocystis hominis</i>	<i>A. lumbricoides</i>	<i>Trichuris trichiura</i>	NPI
<1	6	0 (0)	2 (33)	2 (33)	2 (33)	3 (50)	0 (0)	0 (0)	2 (33)
1-4	49	2 (4.1%)	11 (22.4)	14 (28.6)	15 (30.6)	21 (42.9)	0 (0)	1 (2)	12 (24.5)
5-10	33	3 (9.99)	9 (27.2)	9 (27.2)	13 (39.4)	20 (60.6)	1 (3)	0 (0)	5 (15.2)
11-15	12	3(25)	6 (50)	3(25)	2 (16.7)	7 (58.3)	0(0)	1 (8.3)	2 (16.7)

N: número de niños por grupo de edad; NPI: negativo para parásitos intestinales. Porcentaje en paréntesis.

lidad de la fase II, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

En la tabla 9 se presentan los resultados de concordancia entre métodos obtenidos mediante el índice Kappa. Las mayores concordancias se obtuvieron entre las dos fases del concentrado y entre el examen directo realizado por el observador 2 y el método de concentración tanto en su fase I como en su fase II. Es notoria la baja concordancia entre los dos observadores en el examen directo.

Los resultados obtenidos al calcular las concordancias pueden ser explicados por las diferencias de positividad para cada uno de los parásitos según los diferentes métodos. Las mayores diferencias se encontraron en la detección de *Blastocystis hominis*, *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* tanto en los métodos directo como concentrado, incluyendo las dos fases. Las diferencias en la detección de *Giardia intestinalis* son principalmente entre el directo y el concentrado total y cada una de sus fases. Las diferencias

más pequeñas se encontraron entre las dos fases del concentrado.

En general, las diferencias en la detección de parásitos entre el directo realizado por el observador 1 y el concentrado total y en cada una de sus fases son mayores que las encontradas entre el directo realizado por el observador 2 y la concentración.

DISCUSIÓN

La infección por parásitos intestinales es considerada como una de las principales causas de morbilidad y de retraso en el crecimiento y desarrollo en la población infantil (12,13) especialmente en aquellos sectores de la población con necesidades básicas insatisfechas.

La distribución etérea del grupo estudiado refleja la estructura de la población que acude al servicio de Consulta Externa del hospital de la Misericordia, encontrándose que cerca de 50% de los niños pertenecían al grupo de 1 a 4 años.

A pesar de que los síntomas gastrointestinales en su conjunto constituyeron el principal motivo de consulta en el 56% de los casos (tabla 2), y posiblemente la razón principal de la solicitud del examen coproparasitológico, 44% de los niños consultaron por manifestaciones no atribuibles al tracto gastrointestinal, lo cual permite concluir que en muchos

casos la indicación del examen coproparasitológico no es muy precisa.

La prevalencia de parasitismo intestinal en la población estudiada fue alta (77%) y en su mayoría atribuible a protozoarios considerados como no patógenos. Es notoria la baja prevalencia de parasitismo por helmintos, con solamente dos casos de tricocefalosis y uno de ascariasis. La razón principal de esto radica en que en la ciudad de Bogotá los geohelmintos encuentran condiciones poco propicias para mantener su ciclo en el ambiente y por lo tanto para su transmisión. Estos resultados están de acuerdo con los hallazgos de la Encuesta Nacional de Morbilidad de 1980 y los de un estudio realizado en el Hospital Infantil Lorencita Villegas de Santos (HILVS) de Bogotá en 1991 (1,14), donde se encontró una baja prevalencia de helmintiasis intestinales en la ciudad de Bogotá.

Blastocystis hominis fue el parásito más prevalente en la población infantil estudiada, aunque existe una gran controversia sobre si este protozoario es o no patógeno y la tendencia general es a considerarlo como patógeno solamente en casos excepcionales (cuando solamente se encuentra este protozoario y en alto número en un paciente con sintomatología gastrointestinal) (15,16).

De las amibas intestinales no patógenas *Entamoeba coli* y *Endolimax nana* se

Tabla 5. Prevalencia de parásitos intestinales por sexo.

PARÁSITO	HOMBRES (N= 49)	MUJERES (N= 51)
<i>E. histolytica</i>	5 (10.2)	3 (5.9)
<i>E. coli</i>	19 (38.8)	9 (17.6)
<i>E. nana</i>	15 (30.6)	13 (25.5)
<i>G.intestinalis</i>	16 (32.7)	16 (31.4)
<i>B. hominis</i>	23 (46.9)	28 (54.9)
<i>A. lumbricoides</i>	1 (2)	0 (0)
<i>T. trichiura</i>	1 (2)	1 (2)

Tabla 6. Comparación de sensibilidad entre los métodos directo y concentrado para la detección de los diferentes parásitos intestinales.

PARÁSITO	DIRECTO OBSERVADOR 1	DIRECTO OBSERVADOR 2	CONCENTRADO FASE I O FASE II	CONCENTRADO FASE I	CONCENTRADO FASE II
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/8 (62.5%)	4/8 (50%)	1/8 (12.5%)	1/8 (12.5%)	0/8 (0%)
<i>Entamoeba coli</i>	4/28 (14.3)	12/28 (42.9)	25/28 (89.3)	17/28 (60.7)	19/28 (67.9)
<i>Endolimax nana</i>	0/28 (0)	12/28 (42.9)	26/28 (92.9)	17/28 (60.7)	25/28 (89.3)
<i>Iodamoeba butschlii</i>	0/1 (0)	1/1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>Giardia intestinalis</i>	6/32 (18.8)	22/32 (68.8)	26/32 (81.3)	24/32 (75)	25/32 (78.1)
<i>Blastocystis hominis</i>	13/51 (25.5)	28/51 (54.9)	45/51 (88.2)	40/51 (78.4)	32/51 (70.6)
<i>Trichuris trichiura</i>	1/2 (50)	1/2 (50)	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	0/1(0)	1/1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Nota: Se calculó la sensibilidad tomando como denominador el número de muestras encontradas positivas por cualquiera de los métodos.

encontraron en 28% de los casos. Esto concuerda con los resultados de la Encuesta Nacional de Morbilidad de 1980 en que estas fueron las amibas intestinales de mayor prevalencia en todos los grupos de edad (14). Aunque estos protozoarios son considerados como comensales, su frecuencia en una

población puede servir como indicador del grado de transmisión fecal-oral. (17).

Entre los parásitos patógenos el más frecuente fue *Giardia intestinalis* en todos los grupos de edad que alcanzó su máxima prevalencia en el grupo de

5 a 10 años. En 10 de los 31 casos (32.5%) que consultaron por enfermedad diarreaica se encontraron quistes o trofozoítos de *Giardia intestinalis*. Estos hallazgos concuerdan con los de otros estudios en los que se demuestra que la giardiasis es la enfermedad parasitaria de mayor prevalencia en preescolares y escolares y el parásito que más frecuentemente se encuentra como agente causal de enfermedad diarreaica en niños (1,18,19).

Entamoeba histolytica fue encontrada solamente en ocho casos, en tres de los cuales se asoció con enfermedad diarreaica aguda. Esta baja prevalencia concuerda con los hallazgos de otros estudios similares en población infantil, en los cuales se encontró una

Tabla 7. Comparación de la sensibilidad de los métodos utilizados individualmente con su empleo conjunto.

PARÁSITO	DIRECTO OBSERVADOR 2	CONCENTRADO FASE I O FASE II	DIRECTO Y CONCENTRADO
<i>E. histolytica</i>	4/8 (50%)	1/8 (12.5%)	5/8 (62.5%)
<i>E. coli</i>	12/28 (42.9)	25/28 (89.3)	28/28 (100)
<i>E. nana</i>	12/28 (42.9)	26/28 (92.9)	28/28 (100)
<i>Iodamoebabutschlii</i>	1 / 1 (100)	0 (0)	1 / 1 (100)
<i>Giardia intestinalis</i>	22/32 (68.8)	26/32 (81.3)	31/32 (96.9)
<i>Blastocystis hominis</i>	28/51 (54.9)	45/51 (88.2)	48/51 (94.1)
<i>Trichuris trichiura</i>	1 / 2 (50)	2 / 2 (100)	2 / 2 (100)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	1 / 1 (100)	0 (0)	1 / 1 (100)

Nota: Se calcularon los valores de sensibilidad definiendo los denominadores como el número de muestras encontradas positivas por cualquiera de los métodos.

Tabla 8. Resultados de la prueba t para comparar diferencias en la detección de parásitos intestinales entre los diferentes métodos.

MÉTODOS COMPARADOS	VALOR DE t CALCULADO	VALOR DE t CRÍTICO	CONCLUSIÓN Y SIGNIFICANCIA
Examen directo observador 1 vs examen directo observador 2	3.57	1.895	La sensibilidad del examen directo realizado por el observador 2 fue mayor que la del directo realizado por el observador 1 - p<0.05
Examen directo observador 1 vs Concentrado (2 fases)	2.83	1.895	La sensibilidad del concentrado es mayor que la del examen directo realizado por el observador 1 - p<0.05
Examen directo observador 2 vs Concentrado (2 fases)	2.74	1.895	La sensibilidad del concentrado es mayor que la del examen directo realizado por el observador 2 - p<0.05
Fase I vs Fase II del concentrado	1.70	1.895	La sensibilidad del concentrado en su fase II es mayor que la del concentrado en su fase I - p<0.05 *

* Nota : En este caso, se aceptó la hipótesis nula.

Tabla 9. Concordancia entre los diferentes métodos diagnósticos.

MÉTODOS COMPARADOS	ÍNDICE KAPPA	INTERVALO DE	INTERPRETACIÓN * CONFIANZA DEL 95 %
Examen directo observador 1 vs examen directo observador 2	0.117	-0.05 - 0.284	Concordancia mala
Examen directo observador 1 vs Concentrado (2 fases)	0.151	0.035 - 0.267	- Concordancia mala
Examen directo observador 2 vs Concentrado (2 fases)	0.475	0.312 - 0.637	Concordancia moderada
Fase I vs Fase II del concentrado	0.838	0.722 - 0.953	Concordancia muy buena

* La interpretación de los valores del índice Kappa se realizó siguiendo los lineamientos propuestos por Landis y Koch (9) así : <0 : Nula; 0-0.20: Mala; 0.21-0.40: Regular; 0.41-0.60 : Moderada; 0.61-0.80 : Buena; 0.81-1.00 : Muy buena.

frecuencia de parasitismo por *Entamoeba histolytica* entre 0.9 y 9.0% (1,14,18,20,21).

No se encontraron muestras positivas para *Cryptosporidium parvum* ni siquiera en los niños con diarrea. Aunque este parásito se encuentra más frecuentemente como agente causal de enfermedad diarreica crónica en pacientes inmunosuprimidos, también es un agente causal de enfermedad diarreica aguda en niños y en adultos inmunocompetentes (5). Este resultado contrasta con los de estudios realizados en Medellín y en Venezuela en donde se encontraron prevalencias de 4 y 11% respectivamente, en niños con enfermedad diarreica aguda, y de 6% en niños asintomáticos (5,22). La ausencia de parasitismo por este agente podría deberse bien a que las condiciones climáticas y ambientales para su transmisión en Bogotá son desfavorables o a que, siendo la criptosporidiosis una zoonosis común en ganado bovino, se espera que su prevalencia sea mayor en áreas rurales que en urbanas. La gran mayoría de los pacientes estudiados (97%) provenían de área urbana y solamente 2% tenían antecedente de contacto con ganado vacuno.

Los microsporidios, al igual que los criptosporidios, son parásitos que han cobrado importancia reciente debido a que se comportan como oportunistas en pacientes inmunosuprimidos, particularmente en pacientes con SIDA. *Encephalitozoon intestinalis* y *Enterocytozoon bieneusi* son las especies que más frecuentemente infectan el tracto gastrointestinal humano (23). Aunque no son muy frecuentes pueden causar enfermedad diarreica aguda, generalmente autolimitada, en personas inmunocompetentes previamente sanas (23). En el presente trabajo se encontraron 32 muestras sospechosas para microsporidios cuando se realizó

tamizaje con la técnica de blanco de calcoflúor y solamente seis sospechosas mediante la coloración de Ryan y Weber, de las cuales una fue confirmada con certeza. La dificultad diagnóstica de estos microorganismos hace necesario realizar extendidos delgados de la muestra para obtener mejor contraste y contar con láminas de referencia para la confirmación del diagnóstico.

El alto número de muestras sospechosas para microsporidios con la técnica de calcoflúor se debe a que el calcoflúor tiene afinidad por la quitina, componente que se encuentra en levaduras y otros elementos fúngicos y que por lo tanto puede dar lugar a fluorescencia inespecífica y así a un considerable número de resultados falsos positivos. Por esta razón esta prueba sólo debe usarse como tamizaje. La técnica de Ryan también puede dar lugar a resultados falsos positivos por confusión con levaduras aunque su especificidad es mayor (7,24). Estos hallazgos confirman las dificultades existentes para el diagnóstico de las microsporidiosis. Además de ser parásitos relativamente poco conocidos, su tamaño pequeño, en general menor de 1-4 micras, y su forma, similar a la de otros elementos figurados que pueden observarse al examen microscópico de materia fecal, dificultan su identificación (7,24). Por estas razones en los casos positivos o sospechosos el diagnóstico debe confirmarse mediante microscopía electrónica, procedimiento costoso y solamente disponible en algunos centros de investigación (24). Por todo lo anterior se hace necesario desarrollar nuevos métodos parasitológicos o inmunológicos que permitan una alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico.

La comparación de los métodos de diagnóstico de parasitismo intestinal permite concluir que el método de

concentración en sus fases I y II presentó, en general, mayor sensibilidad que el método directo y para la mayoría de los parásitos intestinales, excepto para *Entamoeba histolytica*, lo cual podría explicarse por el hecho de que en los métodos de concentración no es posible detectar trofozoitos (25).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el examen directo realizado por dos observadores diferentes, siendo en general mayor la detección de parásitos cuando las muestras fueron examinadas por el observador 2. Es notoria la ausencia de muestras positivas para *Endolimax nana* en el examen directo por parte de uno de los observadores. Las diferencias y la mala concordancia entre observadores podrían atribuirse a diversos factores, entre ellos: 1. diferencias en el tiempo dedicado al examen microscópico entre los observadores, el cual fue mayor para el segundo caso; 2. la toma de múltiples sitios para el examen de una misma muestra y 3. en el caso específico de *Endolimax nana*, la diferencia podría ser debida a la ausencia de criterios diagnósticos claros para su identificación y particularmente para su diferenciación con levaduras (1).

Al comparar la recuperación de parásitos entre las dos fases del método de concentración, en general la capacidad de detección de la fase II fue mayor que la de fase I, con las excepciones de *B. hominis* y de *E. histolytica*, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Esto se debe a que el empleo del éter en la fase II permite obtener una preparación más limpia, libre de grasas y residuos sólidos que interfieren con la visualización de formas parasitarias al examen microscópico (17,26). A pesar de ello la concordancia entre las dos fases del concentrado fue muy buena (Kappa= 0.838).

En el caso de *Giardia intestinalis*, la sensibilidad también fue mayor con el método de concentración y especialmente con la Fase II, pero en el mejor de los casos fue de un 81.3%. La baja sensibilidad del examen directo para el examen de giardiasis (68.8%) concuerda con la obtenida en un estudio realizado entre el INS y el HILVS en donde se demostró una sensibilidad del examen directo entre 61 y 83% (2). A pesar de los valores de sensibilidad del examen directo y del concentrado, estos métodos son superiores al aspirado de líquido duodenal, a las improntas de mucosa intestinal y a la biopsia intestinal, cuyas sensibilidades varían entre 22 y 50% (2). Todo lo anterior corrobora la dificultad diagnóstica que presenta la giardiasis que puede ser debida a factores como excreción intermitente de quistes o administración previa de medicamentos o sustancias que interfieren con el examen parasitológico (27,28). Esta dificultad podría ser solucionada combinando métodos diagnósticos, como por ejemplo, el examen directo y el método de concentración realizados secuencialmente, como se muestra en la Tabla 7, con lo cual se alcanza una sensibilidad cercana al 100%, o bien procesando muestras seriadas o realizando "pools" de muestras (2,7,24,25). Otra alternativa es la de emplear pruebas inmunológicas para detectar antígeno de *Giardia intestinalis* en heces con lo cual se contrarresta el problema de la excreción intermitente de quistes. Una prueba comercial desarrollada con este propósito muestra una sensibilidad de 85% y una especificidad del 100% (29). Sin embargo, estas pruebas, con valores de sensibilidad altos y similares a los obtenidos con el uso secuencial del método directo y de concentración, tienen un costo superior y además no permiten el hallazgo de otros parásitos intestinales que pueden causar

sintomatología similar a la de la giardiasis.

Algo semejante sucede con el diagnóstico de *Blastocystis hominis*: la sensibilidad del método de concentración fue notoriamente mayor que la de los métodos directos pero, al contrario de lo encontrado en la mayoría de los protozoarios intestinales, fue mayor la sensibilidad de la fase I que la de la fase II del concentrado. Esta diferencia entre las fases podría explicarse porque el éter, reactivo utilizado en la fase II, aparentemente ocasiona un efecto sobre la morfología del *Blastocystis* que puede llevar a diagnosticar erróneamente como negativa una muestra positiva. Algunas observaciones preliminares realizadas durante el presente trabajo parecen apoyar esta hipótesis. Sin embargo, esta posibilidad debe ser estudiada más a fondo.

En nuestro medio, la gran mayoría de las instituciones basan el diagnóstico de parasitismo intestinal solamente en la realización del examen directo. Este procedimiento, aunque sencillo, fácil y de bajo costo, presenta limitaciones, especialmente en cuanto a su sensibilidad, limitaciones principalmente debidas a la pequeña cantidad de muestra examinada, la presencia de detritus que interfieren en la lectura de láminas y pueden ocasionar confusión, o mala identificación de formas parasitarias. Estas limitaciones podrían ser superadas con el empleo de métodos de concentración, además del examen directo. Los métodos de concentración son más sensibles porque utilizan una gran cantidad de muestra, emplean solventes que eliminan restos y facilitan la detección de parásitos. Los sedimentos de concentrados obtenidos sólo con formol (fase I) contienen más residuos, mientras que los obtenidos después del uso de dietiléter en este

caso o acetato de etilo (Eac) (fase II) (17), dan lugar a preparaciones más claras y limpias. Sin embargo, lo ideal sería procesar las muestras por examen directo y concentrado con lo cual se logra visualizar los trofozoitos si están presentes y aumentar la sensibilidad.

El método de concentración en formol-éter empleado en el presente trabajo permite una buena recuperación de parásitos. Sin embargo, siendo el éter altamente volátil e inflamable, algunos autores han propuesto su sustitución por acetato de etilo estableciendo mejores condiciones de bioseguridad, sin alterar la sensibilidad. En una comparación realizada entre los resultados obtenidos empleando acetato de etilo y dietil-éter en la concentración por formol-éter se encontraron mínimas diferencias en la recuperación de microorganismos sin relevancia clínica desde el punto de vista del diagnóstico. Estos resultados demuestran que el acetato de etilo provee un buen sustituto para el dietil-éter como solvente en la técnica de sedimentación de formol-éter (17).

La calidad del diagnóstico parasitológico mejora también con el empleo de coloraciones especiales. Estas permiten una mejor visualización de todas las estructuras parasitarias, confirmando la presencia de un parásito o microorganismo específico. En casos de sospecha clínica de infección por algunos protozoos, como *Cyclospora*, *Cryptosporidium* y microsporidios es indispensable recurrir a las coloraciones especiales como Z-N modificado, Ryan (Figura 1) o calcoflúor (Figura 2) para un correcto diagnóstico parasitológico (30). Las coloraciones como hematoxilina férrica, tricrómica, o el empleo de la solución amortiguada de azul de metileno en preparaciones húmedas permiten una clara diferenciación entre trofozoitos de *Entamoeba histolytica* y

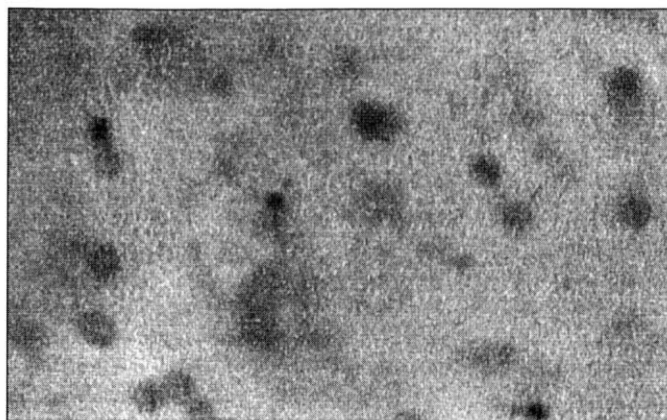


Figura 1. Coloración tricrómica de Ryan para microsporidiosis.

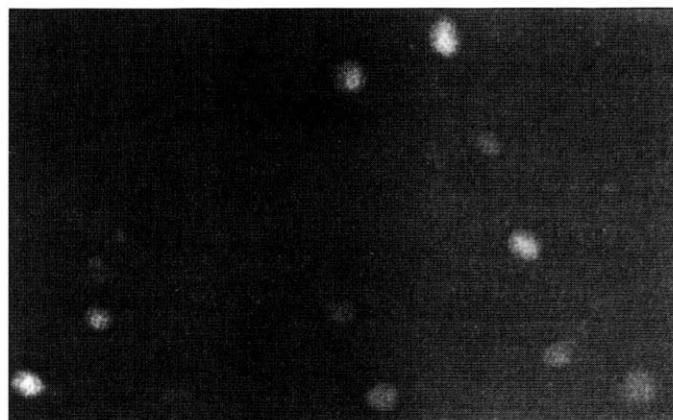


Figura 2. Fluorescencia con blanco de calcofluor.

leucocitos, un error que frecuentemente se comete en el laboratorio (1,30).

El empleo del micrómetro ocular contribuye también a mejorar la calidad del diagnóstico parasitológico. Debe recordarse que la única manera de diferenciar quistes de *E.histolytica* de quistes de *E.hartmanni* es midiendo el tamaño de ellos: mayor de 10 micras en el primero y menor en el segundo. Igualmente el tamaño de los ooquistes es uno de los criterios que permite la diferenciación morfológica entre

Cryptosporidium y *Cyclospora* (31).

Un adecuado diagnóstico de las parasitosis intestinales tiene beneficios sobre la salud de los pacientes afectados, en vista de las consecuencias adversas que pueden tener el parasitismo y su diagnóstico o tratamiento erróneos. Estas razones permiten enfatizar la importancia de mejorar por todos los medios posibles la sensibilidad y especificidad del diagnóstico coproparasitológico.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean expresar sus agradecimientos a las siguientes personas e instituciones por su colaboración en este trabajo: Dra. Carolina Lozada, Dra. Gloria Uribe y personal del laboratorio clínico del Hospital La Misericordia; Unidad de Parasitología Depto. de Microbiología Facultad de Medicina U. Nacional de Colombia; Laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Salud y Dr. Felio Bello, U. de la Salle.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Duque S, Guerrero R, Nicholls RS, et al. Examen coproparasitológico en niños: comparación de resultados obtenidos por dos métodos en dos instituciones de Santafé de Bogotá. *Biomédica* 1994; 14: 39-47.
- Guerrero R, Duque S, Nicholls S, et al. Comparación de cuatro métodos diagnósticos. Trabajo presentado en el Congreso Colombiano de Pediatría. Medellín, 1997.
- Subcommittee on Laboratory Standards, Committee on Education, American Society of Parasitologists. Procedures suggested for use in examination of clinical specimens for parasitic infection. *J Parasitol* 1977; 63: 959-60
- Banse V, Gigi J, Verstraeten L, et al. Parasitological evaluation of the stool. *Acta Clin Belg* 1991; 48: 307-315.
- Vásquez IH, Restrepo M, Botero D. Criptosporidiosis. *Biomédica* 1986; 6: 48-70.
- Ryan N, Sutherland G, Coughlan K, et al. A new Trichrome-Blue Stain for Detection of Microsporidial Species in Urine, Stool and Nasopharyngeal Specimens. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 3264-69.
- Luna V, Stuart BK, Bergeron DL, et al. Use of the fluorochrome calcofluor white in the screening of stool specimens for spores of microsporidia. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 656-659.
- Dean AG, Dean JA, Burton AH, et al. EpiInfo versión 5: a word processing database and statistics program for epidemiology and microcomputers. Center for Disease Control, Atlanta, USA. 1990.
- Kramer MS, Fenistein AR. Clinical biostatistics. LIV. The biostatistics of concordance. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 29: 111-123.
- Serna Castilla L, Craviota J. Estadística simplificada para la investigación en ciencias de la salud. Editorial Trillas. México DF, México. 1991; 279-284.
- Serna Castilla L, Craviota J. Op cit. p: 247-251.
- Lewis LG, Cohen MB. Gastrointestinal infection in children. *Curr Opin Pediatr* 1993; 5: 573-579.
- Bundy DAP. New initiatives in the control of helminths. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1990; 84: 467-468.
- Corredor A, Arciniegas E. Parasitismo intestinal. Encuesta Nacional de Morbilidad 1980. Instituto Nacional de Salud. Bogotá DC, Colombia. En prensa.
- Miller RA, Minshew BH. Blastocystis hominis: an organism in search of a disease. *Rev Inf Dis* 1988; 10: 930-938.
- Doyle PW, Helgason M, Mathias RG, et al. Epidemiology and pathogenicity of Blastocystis hominis. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 116-121.
- García LS, Shimizu R. Comparison of

- Clinical Results for the Use of Ethyl Acetate and Diethyl Ether in the formalin-ether sedimentation technique performed on polyvinil alcohol-preserved specimens. *J Clin Microbiol* 1995; 13: 709-713.
18. **Mora JA., Suescún J.** Estudio longitudinal sobre la etiología y epidemiología de la enfermedad diarreica aguda en los niños de una comunidad urbana pobre de Bogotá, Colombia. Instituto Nacional de Salud. Serie Publicaciones Científicas No. 15. Bogotá D.C. 1988.
 19. **Cardoso de Sa G, de Santana AD, de Aguir CP.** Prevalence and epidemiologic aspects of giardiasis in day care centers in the Municipality of Aracaju, SE, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 1995; 28: 25-31.
 20. **Makhlouf SA, Sarwat MA, Mahmoud DM, et al.** Parasitic infection among children living in two orphanages in Cairo. *J Egypt Soc Parasitol* 1994; 24: 137-145.
 21. **Kappus KD, Lundgren RG Jr, Juranek DD, et al.** Intestinal Parasitism in the United States: Update on a continuing problem. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50: 705-713.
 22. **Chacin Bonilla L, Bonilla MC, Soto-Torres L, et al.** Cryptosporidium parvum in children with diarrhea in Zulia State, Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 365-369.
 23. **Weber R, Bryan R, Juranek D.** Improve Stool Concentration Procedure for Detection of Cryptosporidium Oocysts in Fecal Specimens. *J. Clin Microbiol* 1992; 30: 2869 - 2873.
 24. **Didier E, Orenstein JM, Aldras A, et al.** Comparison of three Staining Methods for Detecting Microsporidia in Fluids. *J. Clin Microbiol* 1995; 33: 3138 - 3145.
 25. **Bundy DAP, Hall A, Medley GF, et al.** Evaluating measures to control intestinal parasitic infections. *Wld Health Statist Quart* 1992; 45: 168-179.
 26. **Waldman E, Tzipori S, Forsyth JRL.** Separation of Cryptosporidium species oocysts from feces by using a Percoll discontinuous gradient. *J Clin Microbiol* 1981; 23:199-200.
 27. **Aldeen WE, Whisenant J, Hale D, et al.** Comparison of formalin-preserved fecal specimens with three individual samples for detection of intestinal parasites. *J Clin Microbiol* 1995; 31:144-145
 28. **Sun Tsieh.** The diagnosis of giardiasis. *Am J Surg Pathol* 1980; 4: 265-271.
 29. **Nicholls S, Guerrero G, Duque S, et al.** Evaluación del inmunoensayo enzimático GiardEIAR para detección de antígeno de Giardia lamblia en muestras fecales humanas. Trabajo presentado en el XII Congreso Latinoamericano de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Sao Pablo, Brasil. 1996.
 30. **Long EG, Christie JD.** The diagnosis of old and new gastrointestinal parasites. *Clinics in Laboratory Medicine* 1995; 15: 307-330.
 31. **González-Ruiz A, Bendall RP.** Size matters: The Use of the ocular micrometer in diagnostic parasitology. *Parasitology Today* 1995; 11: 83-85.