

MANUAL DE PARASITOLOGÍA



EMPRESA SOCIAL DEL ESTADO
HOSPITAL SAN AGUSTIN DE
FONSECA

YELITZA DEL CARMEN AYALA
REDONDO
Gerente

02-02-2021



TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	2
2.	MÉTODOS.....	2
2.1.	MÉTODOS DIRECTOS.....	2
2.2.	MÉTODOS INDIRECTOS	2
3.	TÉCNICAS MAS COMUNES PARA DETECTAR PARASITOS INTESTINALES.....	3
3.1.	TÉCNICAS NO MUY COMUNES.....	3
4.	MÉTODOS QUÍMICOS USADOS EN HECES	3
5.	OBTENCIÓN DE MUESTRA	3
5.1.	INDICACIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	4
6.	COPROLÓGICO.....	4
6.1.	EXAMEN MACROSCÓPICO	4
6.2.	EXAMEN MICROSCÓPICO.....	6
6.3.	MONTAJE DE LAS MUESTRAS.....	6
7.	COPROLÓGICO DIRIGIDO O COPROSCOPICO	6
7.1.	RECOLECCIÓN.....	7
7.2.	DETERMINACIÓN DE LOS AZUCARES REDUCTORES	7
7.3.	DETERMINACIÓN DE LA SACAROSA	8
7.4.	DETERMINACIÓN DEL PH	8
7.5.	DETERMINACIÓN DE SANGRE OCULTA	9
8.	MALARIA.....	9
8.1.	CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE MALARIA.....	10
8.2.	RECRUDESCENCIA:.....	10
8.3.	RECAÍDA.....	11
8.4.	REINFECCIÓN	11
9.	DETERMINACIÓN DE HEMOPARASITOS	11
9.1.	COLORACIONES PREPARACIONES Y CUIDADOS	11
9.2.	DETERMINACIÓN DE HEMOPARÁSITOS POR EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA.....	21
10.	LEISHMANIASIS.....	24
10.1.	TIPOS DE LEISHMANIASIS	25
10.2.	DIAGNOSTICO.....	27
11.	ENFERMEDAD DE CHAGAS	29
11.1.	MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	30
11.2.	DIAGNOSTICO.....	31

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo del tubo digestivo hay flora normal, variando en su concentración y tipo en las diversas zonas debido a las condiciones ofrecidas por cada una de ellas.

Los mecanismos por los cuales los microorganismos producen daño y sintomatología a nivel intestinal son varios:

- Ingestión de toxinas preformadas en los alimentos
- Ingestión de microorganismos que producen la toxina a nivel intestinal
- Invasión directa de la mucosa intestinal
- Sobrecrecimiento en el intestino

El diagnóstico de las enfermedades parasitarias no siempre es posible hacerlo por medio de clínica y aún cuando éste sea posible, siempre es necesario comprobarlo por la demostración del agente etiológico, o por la comprobación de reacciones que puede presentar el organismo parasitado.

2. MÉTODOS

Los métodos para el examen parasitológico varían en su efectividad según el tipo de parásito que se busca, el tiempo transcurrido tras la defecación, el equipo técnico del laboratorio y el que se dispone para observarlo.

Ningún método es eficaz al 100%, por lo que es preciso conocer varios de ellos, así como sus ventajas e inconvenientes.

Así pues, los métodos de diagnóstico parasitológico en el laboratorio se pueden dividir en:

2.1. MÉTODOS DIRECTOS

Permiten ver el parásito en sí o formas derivadas de él (quistes, huevos o larvas), por medio de los cuales se hacen un diagnóstico seguro y definitivo

2.2. MÉTODOS INDIRECTOS

Por medio de los cuales, se investiga las reacciones citológicas o humerales del organismo parasitado (presencia de anticuerpos).

Los parásitos o las formas que se derivan de él, algunas veces son muy escasos y por lo tanto no se encuentran o se encuentran muy difícilmente, por este motivo se puede recurrir a métodos de concentración, ya sean mecánicos o biológicos. Entre los primeros están la centrifugación y para los segundos recurrimos a los cultivos.

3. TÉCNICAS MAS COMUNES PARA DETECTAR PARASITOS INTESTINALES.

MUESTRA: HECES

- A. Preparaciones Húmedas. Método Directo.
- B. Técnicas de concentración.
- C. Tinción permanente.

3.1. TÉCNICAS NO MUY COMUNES.

- A. Técnicas Cuantitativas para huevos.

Técnica que permite la obtención de parásitos cuando no se identifican huevos ni parásitos

- A. Sistema de cultivo.
- B. Técnicas de incubación de algunos huevecillos.
- C. Método de Graham.

4. MÉTODOS QUÍMICOS USADOS EN HECES

- A. Técnicas usadas para investigar etiología de procesos diarreicos diferentes de parásitos.


COPROLOGICOS DIRIGIDOS O COPROSCOPICO.

- B. Técnica usada para valorar malabsorción. DETERMINACION DE GRASAS EN HECES.
- C. Técnica usada para investigar presencia de sangre. SANGRE OCULTA.

5. OBTENCIÓN DE MUESTRA

Una de las fases más importantes en el diagnóstico de parásitos intestinales es la obtención adecuada de muestra para el estudio de las heces.

La muestra debe obtenerse antes de la administración de antibióticos o antidiarréicos. Antes de emprender la revisión de la misma el individuo no debe recibir aceite mineral, bismuto o bario, porque todas estas sustancias interfieren en la detección o identificación de parásitos que viven en las vías Intestinales.



Es necesario dar una buena información al paciente de la recolección de la muestra, para que su análisis sea satisfactorio.

5.1. INDICACIONES PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

- a. Anotar la hora de defecación en el frasco de la muestra, junto con el nombre, la fecha y cualquier otra información.
- b. El recipiente debe ser limpio, seco y fácil de manipular.
- c. Debe recomendarse que no contaminen la parte externa del recipiente, ni lo llenen demasiado.
- d. No deben mezclarlas heces con orina o agua porque se destruyen los parásitos especialmente los trofozoitos.
- e. Para las personas de vida rural, recomiéndese que las heces no sean evacuadas en el suelo, porque las larvas de vida libre y otros parásitos pueden contaminarlas.

Las muestras fecales pueden ser recogidas de evacuaciones por vía natural o espontánea, purgación, raspado o frotación.

6. COPROLÓGICO

Es el estudio de las heces para evaluar patologías en especial del tracto digestivo. Comprende 3 fases:

- Fase PRE-analítica: toma de muestra
- Fase analítica: observación macro y microscópica
- Fase post- analítica: Informe de resultados

En la fase PRE-analítica es necesario tener en cuenta las indicaciones para la recolección de la muestra.

En la fase analítica se realizan los siguientes exámenes:


6.1. EXAMEN MACROSCÓPICO

Este examen físico estudia los caracteres organolépticos de las heces en cuanto a:

1. Forma y Consistencia
2. Color
3. Moco
4. Sangre
5. Parásitos

CANTIDAD

El término medio de las heces de un adulto varía de 100 a 200 gramos por día. Varía con la dieta, la rápida absorción intestinal, la cantidad y característica de los jugos digestivos tales como bilis y los jugos pancreáticos.



La cantidad es mucho mayor en los individuos sometidos a régimen vegetariano y escaso y seco con las comidas en las que se ingiere carne. La edad del paciente, sus hábitos, su ocupación y si lleva una vida activa o influye en la cantidad y peso de las heces.

FORMA Y CONSISTENCIA

Tiene valor por el contenido de agua y por lo tanto para valorar la velocidad del tránsito intestinal.

Normalmente la deposición debe ser sólida y formada, es decir cilíndrica y consistente para conservar esta forma después de excretada.

Los estreñidos eliminan deposiciones pequeñas, duras y a menudo en bolas. Son fluidas o líquidas las heces en las diarreas.

Parece una “papilla” la deposición de enfermos con insuficiencia gástrica descompensada. Es cremosa y pegajosa como “mantequilla” en esteatorrea de origen biliar pancreático o entérico. Pegajosa, oscura como el “alquitrán”, son generalmente las heces de las melenas.

Deposiciones acintadas en lápiz, aparecen en las estenosis del colon distal o recto.

La consistencia de las heces puede proporcionar una indicación del estadio del protozoo presente. Los trofozoitos móviles de los protozoarios intestinales se encuentran usualmente en las muestras líquidas o blandas y en forma ocasional en las semiformadas, el estadio de quistes se encuentran normalmente en las heces formadas o semiformadas y rara vez en las muestras líquidas.

COLOR

Normalmente las heces contienen estercobilina que le dan un color normal. Normalmente y con dieta mixta, la deposición es de color pardo o marrón, más o menos oscura en el adulto. En los lactantes el color es amarillo canario, (dieta láctea). Con dieta de carne se hace marrón oscuro. Una dieta en verduras, especialmente espinacas, tiñe las heces de un color verdoso mientras que, si predominan las papas y el pan, las heces se aclaran hacia un color amarillento. Un exceso de café oscurece la deposición.

Anormalmente encontramos heces blanco-grisáceas acólicas, en la acolia de la ictericia obstructiva y en la fase aguda de las enfermedades hepáticas.

Rojizas irregularmente, son las deposiciones que contienen sangre no transformada.

Negruczas y pastosas, son típicamente las heces de las melenas, es decir, por hemorragias digestivas altas. De color negro son las deposiciones después de la ingestión de la morcilla, sangre, vino tinto, bismuto, sales de plata etc.

MOCO

La presencia de moco es anormal y debe anotarse. Se puede presentar muco-sanguinolento y moco con sangre y pus.

PRESENCIA DE SANGRE

La presencia de sangre en las heces en cantidades apreciables es por lo regular puesta de manifiesto por el examen macroscópico. Ha de consignarse si la cantidad es suficiente para cambiar el color de las heces, como de 1 a 4 cruces, no debe omitirse el anotar su distribución: parcialmente mezclada, uniformemente mezclada, sólo es estrías sobre la superficie.

Decimos SANGRE OCULTA, cuando la cantidad de sangre es pequeña y sólo se puede descubrir mediante reacciones químicas.

PRESENCIA DE PARASITOS

Ocasionalmente pueden observarse en la superficie de las heces, formas adultas de helmintos.

6.2. EXAMEN MICROSCÓPICO

Permite la búsqueda o hallazgo del agente infeccioso

6.3. MONTAJE DE LAS MUESTRAS

Todo montaje de las heces requiere dos preparaciones: una con solución salina y una con lugol. Para hacer estas preparaciones se deben seguir las siguientes indicaciones:

- Marque con lápiz de cera, el número con que fue registrado el paciente
- Coloque una gota de solución salina en un porta objeto
- Con un palillo tome partes diferentes de la muestra
- Mezcle suavemente hasta obtener una homogeneización muestra solución, tratando de que no queden partículas gruesas.
- Cubra con una laminilla evitando la formación de burbujas
- Si la gota de solución ha sido muy grande y parte de la muestra sale por los bordes de la laminilla, absorba el líquido sobrenadante con papel filtro o papel higiénico, de no hacerlo se corre el riesgo de ensuciar los objetivos o la platina móvil del microscopio.
- Realice el mismo procedimiento con el LUGOL.

La preparación de la muestra no debe ser muy gruesa porque impide la visualización del parásito, ni muy delgada porque contiene poco material y por lo tanto menor cantidad de parásitos.

“Una buena preparación es aquella que después de montada permite leer bien a través de ella”.

Si la muestra que se va a examinar es completamente líquida, no la diluya con solución salina, pero si desea investigar quistes, entonces debe montarse con LUGOL. Coloque una gota de solución salina en un porta objeto.

7. COPROLÓGICO DIRIGIDO O COPROSCOPICO

El coprológico dirigido es el estudio de las heces diarreicas mediante un examen macroscópico, un examen químico y un examen microscópico.

Condiciones en que debe ser recogida

la muestra para realizar el coprológico dirigido.

7.1. RECOLECCIÓN

En los lactantes la muestra debe ser recogida en un pañal desechable, al revés, es decir, por el lado plástico y esperamos una evacuación espontánea, o envasarlo en un recipiente.

8.7.2. Paciente:

Todo niño debe abstenerse 4 horas antes del examen, de ingerir leche entera completa. Generalmente muchas muestras son recolectadas en ayuno.

7.2. DETERMINACIÓN DE LOS AZUCARES REDUCTORES

Los azúcares reductores (glucosa, lactosa, fructosa, maltosa) presentes en materia fecal, pueden ser evidenciados mediante métodos cualitativos como Benedict y Clinitest (tabletas).

TABLETAS DE CLINITEST

- FUNDAMENTO

Al colocar una tableta en una mezcla de agua y heces, se disuelve con rapidez por la acción de carbonato de sodio y del ácido cítrico, que actúa como efervescente. El hidróxido de sodio proporciona el medio alcalino, las sustancias reductoras presentes, reaccionan con el sulfato de cobre, reduciendo los iones cúpricos a ácido cuproso.


Técnica

- Colocar 5 gotas de materia fecal en un tubo de ensayo
- Agregar 10 gotas de agua destilada y mezclar agitando el tubo
- Colocar una tableta de Clinitest en el tubo y observar la reacción completa.
- No agitar el tubo durante la reacción o hasta 15 segundos después de que haya finalizado la ebullición. Se debe tomar precauciones porque el fondo se torna Caliente.
- Al finalizar el periodo de 15 segundos, agitar suavemente el tubo para luego comparar el color obtenido con la carta de colores.

INTERPRETACION

NEGATIVO: Sin azúcar. El líquido será azul a los 15 segundos de terminada la ebullición. POSITIVO: Azúcar presente. El líquido cambiará de color. Se torna naranja, marrón. Determinación de la Glucosa

Otro fenómeno que ocurre es que si la agresividad del rotavirus es muy grande, la lesión intestinal es tan intensa en un momento dado, cuando el niño está recibiendo sustancias para oral, no encuentran la superficie necesaria para que la glucosa, el sodio y el agua puedan ingresar y esa carga osmótica intraluminal de los monosacáridos da lugar a que se arrastre agua hacia la luz intestinal, lo que hace que el niño no sólo pueda tolerar sino tampoco la solución hidratante.



Este fenómeno se manifiesta clínicamente porque el paciente presenta vómito cada vez que ingiere la solución hidratante y además tiene diarrea en los primeros 10 minutos. La razón de que la diarrea sea tan rápida es que la solución ingerida no necesita digestión con el HCL y por lo tanto no demora en el estómago y por ser un elemento coloide y electrolítico arrastra el agua por ósmosis, lo que ocasiona un tránsito intestinal rápido.

Por este motivo se creó un nuevo examen, que ha dado buenos resultados: La determinación de glucosa en materia fecal, procedimiento similar al que se hace en orina, por medio de tiras reactivas, que consisten en un método semicuantitativo, es una tira plástica a la cual está adherida un área reactiva para determinar glucosa.

Factores a tener en cuenta en los diferentes métodos para la glucosa.

- Tiempo de expiración: La mayoría de estos productos poseen periodos de expiración aceptables, pero siempre se debe mirar éste antes de compararlos, y al usarlos. También posee un tiempo de expiración luego de abrir el frasco el cual es generalmente de 4 meses
- Tiempo de reacción: Como cualquier prueba de laboratorio, el tiempo de reacción es importante, por lo cual hay que ser muy estricto en el conteo, ya que dos o tres segundos puede alterar los resultados considerablemente.
- Manejo de productos: Evite sacarlo de los frascos, no los exponga en excesiva humedad, calor, frío o luz. No toque el área reactiva con los dedos.
- Tamaño de la muestra: El volumen debe ser adecuado, si es de sangre, cubrir completamente el área reactiva, y si es de heces dejarla mínimo dos segundos en contacto con las heces para que impregne las tiras reactivas.

7.3. DETERMINACIÓN DE LA SACAROSA

Colocamos 1 cc de agua más una porción de heces, se mezcla y se agrega 2 cc de ácido clorhídrico

1N, se hierve por 30 segundos y se toma 1 cc de sobrenadante al cual se le agrega una tableta de clinetest, luego de 15 segundos se lee de igual forma que los azúcares reductores.

7.4. DETERMINACIÓN DEL PH

Cuando el niño recibe mono o disacáridos, estos no pueden absorberse debido al daño epitelial y quedan en la presencia del pH ácido permite sospechar mala absorción de los carbohidratos, pero un pH ácido no excluye el diagnóstico, por esta razón, esta prueba no se recomienda como única prueba "tamiz".

El pH normal va de 6.9 a 7.2 (ligera mente alcalino). Estudio del pH:

La mayoría de los laboratorios utilizan tiras reactivas a cintas de pH, que contienen dos indicadores, el rojo metilo y azul de bromotimol que abarca un intervalo de 4 a 9 demostrado por un viraje de color anaranjado a verde o azul.

Importancia Clínica:

Diarreas por bacterias invasoras el pH es ácido (menor de 6.0), mientras que en diarreas de origen tóxico el pH es neutro. En diarreas vírales siempre es ácido.

7.5. DETERMINACIÓN DE SANGRE OCULTA

En el laboratorio utilizamos tiras reactivas tipo N MULTISTICK, o en algunas ocasiones las tabletas de HEMATEST. Cuando usamos tirillas se realiza el mismo procedimiento que con la glucosa; y con las tabletas de HEMATEST se realiza de la siguiente forma:

En un portaobjeto colocamos un pedazo de papel filtro, y una tableta de HEMATEST, agregándole con un palillo una pequeña porción de la muestra más una gota de agua destilada, esperamos por dos minutos y procedemos a leer así.

Positivo: aparece un color azul.

Negativo: no hay un cambio de color alguno

8. MALARIA

Enfermedad infecciosa, endémica, reconocida hace más de 4.000 años. Único reservorio: hombre.

Causada por el parásito del genero Plasmodium, esporozoario del filo picomplexa (Coccidio-Toxoplasma).

Hombre, animales. Especies parasitarias (hombre):

- Plasmodium falciparum
- Plasmodium vivax
- Plasmodium malariae
- Plasmodium ovale
- Vector: Hembra del género Anopheles



Manifestaciones clínicas.

Malaria o paludismo no complicado

- Escalofrío-sudoración-fiebre
- Fiebre intermitente
- Terciaría (un día de no fiebre). P. vivax y P. falciparum

Maligna: P. falciparum

- Cuartana (dos días de no fiebre)
- Dolor osteoarticular

- Cefalea
- Náuseas y vomito

MALARIA complicada

- Paludismo cerebral (coma profundo)
- Anemia normocítica
- Insuficiencia renal
- Edema pulmonar
- Hipoglicemia

8.1. CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE MALARIA

1. Epidemiológicos:

- Nexo epidemiológico en tiempo (últimos 30 días) , lugar (zona endémica) y persona (paciente con malaria).
- Antecedentes transfusionales.

2. Clínicos:

- Historia de episodio malárico anterior - Fiebre durante los últimos 30 días (72 horas)
- Triada de síntomas: Paroxismos de escalofrío, fiebre y sudoración.
- Cefalea, mialgias, síntomas gastrointestinales, esplenomegalia.
- Evidencia de manifestaciones severas o complicadas: (vómito persistente, cambios de conducta, ictericia, convulsiones, anuria, taquicardia, sangrado espontáneo, inconsciencia, etc.)

3. Laboratorio:

- Diagnóstico parasitológico o antígenos parasitarios.
- Pruebas complementarias: C.H, glicemia, uroanálisis, bilirrubinas, fosfatasa alcalina, etc.

8.2. RECRUDESCENCIA:

- Reparición de síntomas y parasitemia en un paciente que ha tenido un episodio previo de malaria, ocasionada por la persistencia de formas sanguíneas asexuales.
- Ocurre en todas las especies de Plasmodium sp.
- Ocurre dentro de los primeros 30 días siguientes al episodio inicial
- Causa más frecuente: Falla terapéutica

8.3. RECAÍDA

- Reparición de síntomas y parasitemia en un paciente que ha tenido un episodio previo de malaria, ocasionada por la persistencia de formas latentes en hígado (hipnozoitos).
- -Ocurre en Plasmodium vivax y Plasmodium ovale.
- -Ocurren después de transcurridos al menos primeros 30 días del episodio inicial

Usualmente entre 6 y 12 semanas

- -Causa: Persistencia de hipnozoitos, aún a pesar de tratamiento con primaquina x 14 días.

8.4. REINFECCIÓN

- Reparición de síntomas y parasitemia en un paciente que ha tenido un episodio previo de malaria, ocasionada por una nueva picadura infectante.
- Ocurre en todas las especies de Plasmodium sp.
- Ocurre en cualquier momento

9. DETERMINACIÓN DE HEMOPARASITOS

- Muestra: Sangre capilar

- **Materiales:**

- Láminas nuevas portaobjetos
- Lancetas
- Alcohol
- Yodo
- Gasa
- Lámina cóncava
- Reloj Timer

- **Reactivos:**

- Azul de metileno
- Buffer Ph de 7-7.2
- Solución A
- Solución B

9.1. COLORACIONES PREPARACIONES Y CUIDADOS

Los colorantes derivados del método original de Romanowsky sirven para la diferenciación de la mayoría de las estructuras normales y anormales de la sangre. Los componentes básicos de los colorantes de tipo Romanowsky son las tiacina, mientras que los componentes ácidos son las eosinas; es por esto se denominan eosinatos de tiacina.

Las tiacina están constituidas por el azul metileno de diversas proporciones de sus análogos producidos por desmetilación oxidativa: azur B, azur A y azur C. La mayoría de ellos se disuelven en alcohol metílico. La tinción de tipo Romanowsky incluye varias tinciones entre otras Field, Wright, Giemsa, etc.

9.1.1. COLORACIÓN DE FIELD

- Formulación.

La coloración recomendada para la gota gruesa es el método de Field. Debe tener en cuenta que se puede colorear con cualquier coloración de Romanowsky.

Precoloración.

Se recomienda para una mejor deshemoglobización o en los casos en los cuales no van a ser coloreadas las láminas inmediatamente. Este paso es muy importante ya que conserva las estructuras celulares. No se recomienda almacenar las láminas de esta manera por un tiempo superior a una semana.

Azul de metileno fosfatado.

Cloruro de azul de metileno (medicinal)..... 1.0 g Ortofosfato disódico, anhidro Na₂HPO₄..... 3.0g Ortofosfato monopotásico KH₂PO₄..... 1.0g

Triture muy bien las sales en un mortero seco hasta lograr una mezcla homogénea. Pesar 1g de la mezcla por cada 250 - 300 ml de agua destilada certificada. Filtrar y ocultar. Guardar a 4°C. Se ha probado buen funcionamiento cuando ase pesa 0.8g y se disuelve en 200ml de agua destilada certificada.

Almacene en frasco ámbar. Para el uso diario alícuota en frasco ámbar boca ancha, tenga la precaución de filtrar semanalmente y de cambiar la solución de azul de metileno fosfatado cada mes para este procedimiento no olvidar lavar el frasco de uso diario muy bien antes de reenvasar la solución nueva.

Coloración: Solución A:

Cloruro de azul de metileno (medicinal) 0.8g Azur I o Azur B (certificado)
.....0.5g Disolver en 250 ml de solución amortiguadora.

Solución B:

Eosina amarillenta, hidrosoluble 1.0g

Disolver en 250 ml de solución amortiguadora.

Almacenar las soluciones en un frasco ámbar, para uso diario guarde las soluciones en frasco cuenta gotas de plástico que evitan el paso de la luz, debe verificar que las gotas de los dos frascos salgan del mismo tamaño. Cerrar bien los frascos. Guardar a 4° c.

Para evitar el crecimiento de hongos. Debe facilitar las soluciones colorantes casa 15 días. Solución Amortiguadora:

Ortofosfato disódico, anhidro ($\text{Na}_2 \text{HPO}_4$) 10.0g
Ortofosfato monopotásico ($\text{KH}_2 \text{PO}_4$)..... 5.0 g

Mezclar bien en un mortero y disolver 1 gde la mezcla en un litro de agua destilada certificada. El pH de esta solución varía de 6.29 - 7, 20. El pH: 7, 20 es el que ha dado mejores resultados, se sugiere ajustar el pH con las mismas sales de la solución amortiguadora según sea el caso.

Nota: La prueba definitiva de la idoneidad del agua amortiguada está dada en el aspecto que presenta la sangre observada a través del microscopio.

- Procedimiento Coloración de Field.
- Precoloración:

Sumergir la gota gruesa seca en la solución de azul de metileno de 1 a 2 segundos. Escurrir la lámina bien sea en una esponja húmeda, gasa o papel absorbente a fin de eliminar el exceso de azul de metileno y de reducir las veces que se cambie la solución amortiguadora.

Enjuagar con solución amortiguadora hasta que los bordes de la muestra tomen una coloración ligeramente gris - azulada. No colorear hasta la desaparición del color rojo de toda la gota gruesa, 5 inmersiones suaves en solución amortiguadora logran este objetivo. Cambie la solución amortiguadora cuando note demasiado azul.

Deje escurrir los portaobjetos. En los casos que no pueda colorear inmediatamente con el colorante de Field seque los portaobjetos al color suavemente o al sol para evitar el desarrollo de hongos. Proceda a envolver en paquetes de 5 a 15 portaobjetos y guardar en un lugar seco hasta que se pueda colorear. Ahora puede ser almacenada por una semana antes de colorear. Coloración: Por cada lámina a colorear adicionar 3ml de solución amortiguada, una gota de solución A y una gota de solución A en tubo. Mezcle suavemente por inversión. Colocar las gotas gruesas hacia la concavidad de la placa y adicionar la solución colorante evitando la formación de burbujas y deje actuar 9 minutos. El tiempo puede variar según el lote de preparación del colorante.

Lavar suavemente por el respaldo de la lámina con agua de chorro, evitando el contacto del agua con la muestra ya coloreada debido a que se puede desprender.

Escurrir y secar, se puede ayudar de una tabla con ranuras en la cual puede colocar las láminas coloreadas mientras espere el tiempo de secado.

- Valoración De La Coloración

La valoración de las muestras de gotas gruesa debe comenzar sistemáticamente por el análisis de la célula sanguínea y seguidamente por la valoración del parásito. Se debe tener en cuenta que la ausencia de plaquetas denota una condición excepcional de la sangre o también puede

sucedir que se haya añadido una sustancia extraña a la coloración; cuando se observan abundantes leucocitos desfigurados con núcleo de formas anormales indica que el diluyente era inadecuado. Se obtiene muy buenos resultados en la coloración de gota gruesa cuando la muestra se extiende de manera uniforme, seca bien rápidamente y posteriormente se colorea. Esto es para evitar exceso en el tiempo de secado y por consiguiente la fijación de los glóbulos rojos.

- Gota Gruesa.

Valoración Macroscópica.

Cuadro azul claro.

Evaluación microscópica

El cuadro a continuación está basado en la escala sugerida por Field et al en 1963.

El cuadro a continuación está basado en la escala sugerida por Field et al en 1963.

	Grado I	Grado II	Grado III	Grado IV	Grado V
Desheglobinización	Incompleta	Completa	Completa	Completa	Completa
Leucocitos	Núcleos y gránulos eosinófilos tenues de		Núcleos de leucocitos púrpuras oscuro, granulaciones tenues. Eosinófilos granulaciones color rojo cobrizo.	Gránulos de leucocitos pueden variar de rosa, azul algunos violeta.	Todos los elementos intensamente coloreados.
Parásitos	Aún no visibles. Pigmento claramente visible.	Citoplasma y cromatina nuclear visible.	Citoplasma y cromatina nuclear bien definida.	Parásitos intensamente coloreados. Granulaciones de Shuffner y Maurer visibles.	Contraste deficiente de colores.

Contraste de Colores	Deficiente	Disminuido	Optimo	Disminuidos	Deficiente
Fondo	Pálido	Pálido	Ceniza	Azul, ceniza. Moteado por los gránulos de Shuffner y	Azul/ceniza oscuro
Plaquetas	No visible	poco visible	Rosa intenso	Rosa intenso a violeta	Fuertemente coloreados

Generalmente se acepta el grado III, pero algunos autores prefieren el grado IV por hacerse manifiestas las granulaciones de los glóbulos rojos.

Nota: Si los elementos de la sangre no tienen los colores adecuados, es poco probable encontrar una buena diferenciación entre los colores del parásito. Cuando los elementos de la sangre y los parásitos son viejos la coloración pierde intensidad.

- **Problemas de la coloración:**

- Coloración excesivamente azulada.
- Coloración muy gruesa, tiempo prolongado de tinción y alcalinidad del agua amortiguada.
- Coloración excesivamente rosada
- Tinción insuficiente, tiempo de lavado prolongado y acidez del agua amortiguada.
- Precipitación.
- Portaobjetos sucios, secado del colorante durante el momento de tinción y filtración inadecuada.
- Extendido
- Valoración Macroscópica

Película fina y uniforme que no llega a los bordes, con disminución progresiva hacia el final del extendido.
Menos azul que la gota gruesa
Evaluación Microscópica.

	ADECUADA	INADECUADA
Eritrocitos	Coloración neutra. Roja pajiza a ceniza claro.	Rosa o ceniza oscura.

Leucocitos	Núcleo azul oscuro o púrpura. Citoplasma azul más claro (excepto los monocitos que pueden ser azul/ceniza moteado). Granulaciones de los neutrófilos como puntos pequeños bien definidos de color azul a rosa. Gránulos de los osinófilos rojo cobrizo oscuro.	Poco contraste de colores o tonos diferentes de los ideales.
Plaquetas	Azul o púrpura.	Poco contraste de colores o tono diferente a los ideales.
Parásitos	Citoplasma puede variar de azul claro a medio. Cromatina nuclear roja intensa o púrpura oscuro.	Poco contraste de colores o tono diferente de los ideales.
Granulaciones	Rosa o roja. Presencia claramente definida en los eritrocitos. Es indicador de una coloración satisfactoria.	Ausencia o poco definidas. Especialmente el P.vivax

Las células sanguíneas deben presentar los colores ideales para asegurarnos de poder visualizar los hemoparásitos

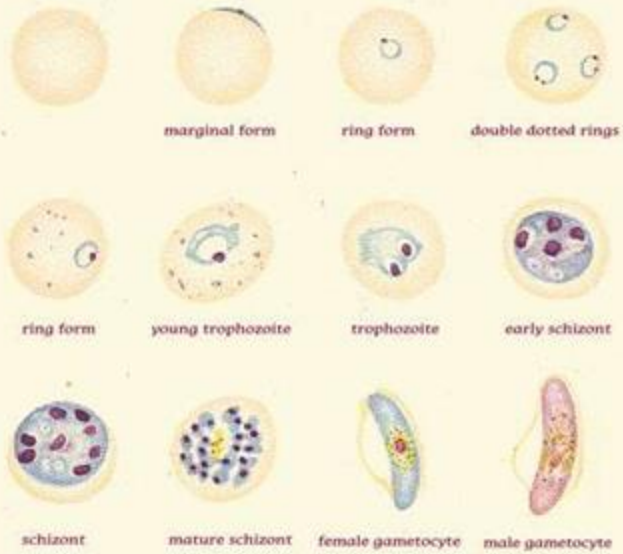
CARACTERÍSTICAS DE LOS ERITROCITOS Y PLASMODIUM EN EXTENDIDO

ERITROCITOS	P. vivax	P. falciparum	P. malarie	P. ovale
Tamaño	Aumentado	Sin aumento	Sin aumento	Aumentado
Preferencia	Jóvenes	Todos	Viejos	Jóvenes
Color	Pálido a normal	Normal	Normal	Normal
Granulaciones	Granulaciones de Shuffner: puntos pequeños rosa rojos aumentan en intensidad con el crecimiento del parásito. Numeroso. Fácilmente observables.	Granulaciones de Maurer puntos rojos generalmente escasos.	Granulaciones de Ziemann. Rara vez se observan. Pequeños y rojizos.	Granulaciones de James puntos pequeños aumentan en intensidad con el crecimiento parasitario. Numerosos. Fácilmente observables.

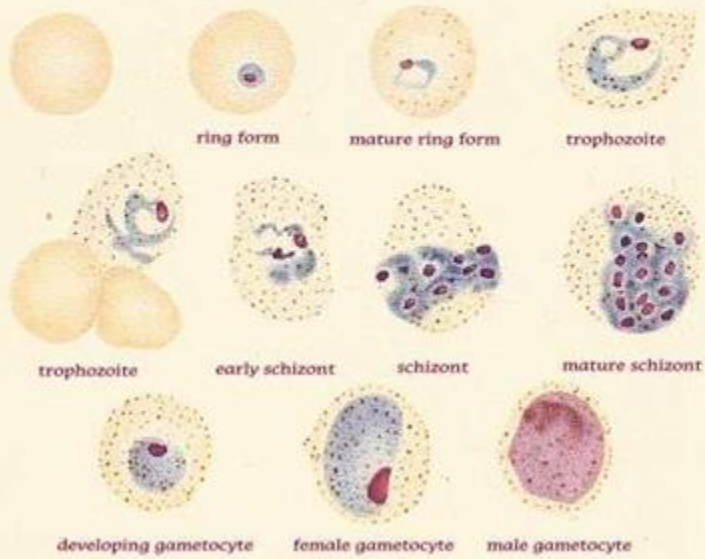
Pigmento	Usualmente carmelito amarillento. Gránulos finos dispersos en el citoplasma del parásito. En los esquizontes condensa en una masa única	Usualmente negro o carmelito oscuro. En formas asexuadas se observan en masas. En el gametocito se observan bastones alrededor de la cromatina	Negro o carmelito. Gránulos gruesos dispersos en el citoplasma de los parásitos. En los esquizontes se condensa en una masa única.	Carmelito y aparece moderadamente.
PARASITOS	P. vivax	P. falciparum	P. malariae	P. Ovale
Tamaño	Grande	Pequeño	Moderado	Intermedio entre
Color G.R.	Pálido	Normal	Normal	Normal
Infección múltiple	Rara	Común	Muy rara	Ocasionalmente
Formas especiales	Marginales raras	Marginales, en candelabro, en "i" o "j".	Fuerte tendencia a formar bandas a lo largo del eritrocito	
Estadios encontrados en s.p	Todos los estadios.	Trofozoitos jóvenes gametocitos. En infecciones severas Trofozoitos maduros y esquizontes.	Todos los estadios.	Todos los estadios.
Trofozoitos jóvenes	Anillos pequeños, a veces con citoplasma ameboide. Vacuolados con una cromatina. Ocasionalmente presencia de granulaciones de Shuffner.	Es el más pequeño de todas las especies. Anillos delicados. Posee algunas veces dos puntos cromatinas.	Anillos pequeños compactos con vacuola y un punto cromatina. Ocasionalmente deforman bandas. Presencia de pigmento malárico.	Anillos pequeños regulares, compactos. Vacuolados con una cromatina. Pueden estar presentes granulaciones de James.

Trofozoitos maduro	Rico en citoplasma muy ameboide, vacuolado. Aumenta el tamaño del eritrocito.	Compacto, ha ganado más y citoplasma. Presencia de granulaciones de Maurer	Formas regulares y formas en banda. Pigmento prominente. Granulaciones de Ziemann.	Compacto ha ganado más citoplasma.
Esquizontes	Ocupa generalmente todo el glóbulo rojo. Tiene de 12-24 merozoitos. Posee una masa de pigmento malárico. Granulaciones de Shuffner.	Muy raro encontrarlo. Generalmente se observa con 2 a 4 merozoitos. Pero el esquizontes puede tener entre 8 y 40 merozoitos.	Ocupa generalmente todo el eritrocito. Tiene de 6 a 12 merozoitos que pueden estar dispuestos a manera de roseta con el pigmento malárico en el centro.	No ocupa más de la 2/3 partes del eritrocito. Tiene de 4 a 12 merozoitos, dispuesto irregularmente. Pigmento malárico formando una sola masa.
Gametocitos	Redondo, grande. Ocupa generalmente todo el eritrocito. Cromatina abundante laxa. Puede ser claramente distinguible (macrogametocito femenino) o difusa (microgametocito masculino)	Formas crecientes de media luna o "salchicha". Masa de cromatina central rodeada por pigmento malárico en forma de bastones.	Difícil de distinguir del trofozoito maduro. Redondo, ovalado y compacto. Ocupa todo el eritrocito. No es vacuolado. Pigmento malárico grueso y disperso.	Difícil de distinguir del trofozoito maduro. Redondo u ovalado. Frecuentemente ocupa todo el eritrocito. Parecido a P. vivax, pero tiene menor tamaño.

P. falciparum



P. vivax



CARACTERÍSTICAS DEL PLASMODIUM EN GOTA GRUESA

PARASITO	Plasmodium vivax	Plasmodium falciparum	Plasmodium malariae	Plasmodium ovale
Trofozoitos Jóvenes	Forma de anillo pequeño, a veces abierto mostrando un citoplasma ameboide.	Anillos muy pequeños, finos y delicados, regulares. A veces abierto formando figura de "I", "U", candelabro.	Pequeños, redondos y compactos. Anillos a veces abiertos. Forma regular Cromatina relativamente grande.	Parecido al P. vivax al P. malariae.
Trofozoito maduro	Grande con variedad de formas ameboides. Vacuola presente. Pigmento malárico color carmelito. Granulaciones de Shuffner.	Compacto con aspecto sólido posee una pequeña vacuola. Usualmente posee pigmento. Raro de encontrar.	Redondos y compactos, vacuolado. Citoplasma coloreado intensamente, con una cromatina grande. Pigmento malárico abundante negro o carmelito.	Redondo y compacto vacuolado. Cromatina mediana. Presencia de pigmento.
Esquizonte	Grandes, redondos de pigmento marrón o negro esparcidos por el citoplasma. Merozoitos distribuidos irregularmente. De 12 a 14 merozoitos. Granulaciones de	Pequeños, redondos y compactos. Con 2 o más merozoitos. Una sola masa de pigmento malárico. Presente en infecciones severas acompañado de un gran número de	De 6 a 12 merozoitos dispuestos alrededor de una masa de pigmento malárico (forma de roseta)	De 4 a 12 merozoitos irregularmente dispuestos.

Gametocitos	Redondos u ovalados con una única cromatina grande. Pigmento malárico distribuido en el citoplasma. Confundibles con trofozoitos maduros. Granulaciones de	Formas crecientes “salchicha” también pueden mostrarse redondeados. Cromatina central rodeada de pigmento malárico color negro a manera de	Indistinguible del	Redondos u ovalados con una cromatina grande. Gránulos de pigmento malárico carmelito a negro. Granulaciones de James frecuentes como halo rosado.
-------------	--	--	--------------------	--

9.2. DETERMINACIÓN DE HEMOPARÁSITOS POR EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA

- Muestra: Sangre capilar
- Materiales:
 - Láminas portaobjetos
 - Lancetas
 - Algodón
 - Yodo
 - Reactivos: Wright, Giemsa y Field
- Procedimiento:

Proceda a marcar la lámina con un lápiz blando de grafito No 1 o “B” en borde esmerilado de la lámina, también puede realizar éste procedimiento con la ayuda de un marcador de punta delgada.

Marque con el nombre del paciente, número consecutivo y fecha en la cual se realizó el examen. Puncione de la misma manera que se inició para la gota gruesa; proceda presionar el dedo del paciente y coloque una gota de sangre en el extremo d una lámina portaobjetos, ponga en contacto la lámina por encima de la gota de manera delicada evitando tocar el dedo del paciente, guardando el espacio designado para la marca de la lámina.

Para realizar el extendido se debe ayudar de otro portaobjetos y con una inclinación de 30° a 40°

dejar extender por capilaridad la sangre y realizar los frotis a lo largo de la lámina.

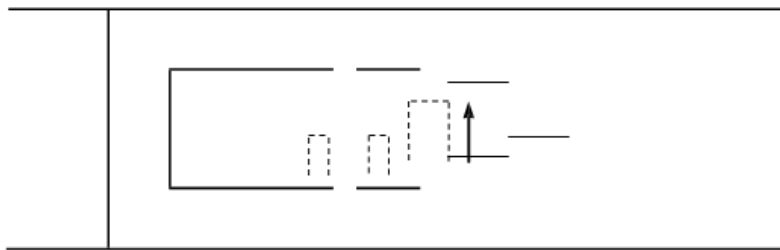
Presione nuevamente y tome un microhematocrito. En los casos de confirmación de especie no es necesario. Limpie el dedo del paciente.

Deje secar a temperatura ambiente en una superficie plana y libre de polvo.

Limpie bien la lámina que utilizó para realizar el extendido para evitar transferencias de una muestra a otra. Proceda a colorear con Field, Giemsa o Wright.

Observar al microscopio en aumento de 10x y 40x, buscar los campos donde los glóbulos rojos se encuentren separados y proceda a observar el aumento de 100 x las formas de trofozoitos, esquizontes y gametocitos (P. vivax y P. malariae) o trofozoitos y/o gametocitos en el caso de P. falciparum.

Para examinar el extendido debe localizarse en un borde lateral, atravesando el borde en breves trazados verticales y horizontales (zig - zag). Ilustración.



- Lectura de la Muestra, Cálculos e interpretación:

Utiliza los campos microscópicos en donde la distribución de los glóbulos rojos sea homogénea y no se encuentren superpuestos, hacia el tercio final del extendido, determinar el número de parásitos por campo y calcular el número de campos necesarios para revisar mínimo 10.000 eritrocitos. Serian necesario 33 campos microscópicos si hay 300 eritrocitos por campo.

Determinar el número de parásitos en 10.000 eritrocitos observando 33 campos microscópicos. Calcular en número de eritrocitos de sangre, utilizando el hematocrito del paciente. Para un hematocrito de 40% estimamos que el paciente tiene 4.000.000 eritrocitos/ul de sangre.

\square parásitos x \square de eritro/ul de sangre

10.0 eritrocitos

Simplificando:

= Parásitos /ul de sangre

\square de parásitos en 10.000 eritrocitos x Hematocrito x 10 = \square parásitos /ul de sangre. Procesa a colorear con Field.

Observar al microscopio un aumento de 10 x y 40 x para la selección de los campos donde se encuentre mayor número de glóbulos blancos, posteriormente mirar en objetivo de 100x y buscar en 100 campos microscópicos la formas de trofozoitos, esquizontes y gametocitos (P. Vivax).

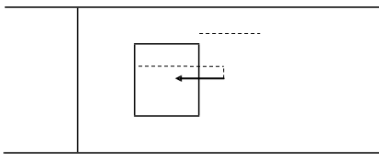
Trofozoitos y/o gametocitos (P. falciparum). De no visualizar el parásito, se deben observar 200 campos microscópicos antes de calificar la muestra como negativa.

Se debe tener presente que un buen campo microscópico es aquel en el cual se presentan de 10 a 20 leucocitos por campo.

Examine la gota a partir de uno de sus bordes, accionando los botones de la platina mecánica, mover la lámina en zig - zag. Mueva constantemente el micrométrico para obtener un mejor enfoque. Ver ilustración.

La sensibilidad de la gota gruesa está considerada desde 80 a 98 % dependiendo de la destreza del lector. Nota: En el caso de no tener la coloración de Field puede emplear la coloración de Giemsa,

Romanowsky modificado o Wright.



- Lectura, Cálculo e Interpretación Gota Gruesa.

Un eficiente tratamiento de un paciente con malaria depende de la lectura cuidadosa de la gota gruesa. Tiene como objetivos específicos establecer la especie del Plasmodium y cuantificar el número de parásitos por microlitro de sangre, criterio básico para el tratamiento y control del paciente.

En caso de *P. vivax* no es indispensable realizar el recuento parasitológico ya que el tratamiento es el mismo exceptuando los casos en los cuales el paciente se encuentre complicado, sin embargo, debe tener cuidado y verificar que no se encuentre al frente de una malaria mixta.

Determinar el número de parásitos en los campos microscópicos necesarios para contar 100 leucocitos. Asumiendo que los pacientes con malaria tienen un promedio de 8.000 leucocitos / ul de sangre, se establece la proporción de parásitos en 100 leucocitos encontrados así:

$$\begin{aligned} & \# \text{ de parásitos} \times 8.000 \text{ leucocitos} / \text{ul} \\ & 100 \text{ leucocitos} \\ & = \# \text{ de parásitos} / \text{ul de sangre} \end{aligned}$$

Se considera positivo para Plasmodium cuando se observan las formas parasitarias anteriormente descritas, en necesario informar la especie y en el caso de *P. falciparum* además el recuento de parásitos por microlitro de sangre.

Se considera negativo cuando no se observan las formas del parásito en 100 campos microscópicos observados, si las condiciones de la gota no son las mejores deberá considerarse un mayor número de campos microscópicos por lo menos 200.

Nota: En parasitemias muy altas cuando no sea posible realizar el extendido ni el hematocrito del paciente, puede contar el número de leucocitos contra 500 parásitos como se presenta en la siguiente fórmula:

500 parásitos contados

de leucocitos contados

x 8.000 = N° parásitos/ul de sangr

Informe de Resultados.

Para los casos de malaria por *P. Vivax* y *P. malariae* no se debe hacer recuento ni diferenciación entre formas sexuadas y asexuadas. En el caso de *P. falciparum* se debe informar por separado las formas sexuadas y asexuadas. En infecciones mixtas es importante tener en cuenta, registrar primero el parásito que esté predominando y posteriormente, registrar la especie subordinada.

- Hemoparásitos: Negativo.
- Hemoparásitos: Positivo para *P. vivax*.
- Hemoparásitos: Positivo para *P. falciparum* (50.000 parásitos asexuados /ul).
- Hemoparásitos: Positivo para *P. falciparum* (100 parásitos asexuados /ul y 5 gametocitos /ul).
- Hemoparásitos: Positivo para *P. falciparum* (200 gametocitos/ ul).
- Hemoparásitos: Infección mixta: Positiva para (*P. vivax* y *P. falciparum* 40 gametocitos/ul).
- Hemoparásitos: Infección mixta: Positiva para (*P. vivax* y *P. falciparum* 2000 parásitos asexuados/ul).
- Hemoparásitos: Positivo, aunque no se puede precisar la especie. Se sugiere nuevo examen.

Nota: Solamente en aquellos casos donde el microscopista cuenta con un microscopio y el volumen y el número de pacientes a diagnosticar sea muy grande se acepta que utilice el recuento semicuantitativa.

El recuento semicuantitativo consiste informar la especie de Plasmodium que ocasiona la infección y el número aproximado de parásitos (trofozoitos, esquizontes y gametocitos), encontrados en la gota gruesa así:

1 - 10 en 100 campos microscópicos.....+

11 - 100 en 100 campos microscópicos.....++

1 - 1 por campo microscópico.....+++

10 por campo microscópicos.....++++

10. LEISHMANIASIS

La leishmaniasis es una enfermedad zoonótica causada por diferentes especies de protozoos del género *Leishmania*. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad, van desde úlceras cutáneas que cicatrizan espontáneamente hasta formas fatales en las cuales se presenta inflamación severa del hígado y del bazo. La enfermedad por su naturaleza zoonótica, afecta tanto a perros como humanos.

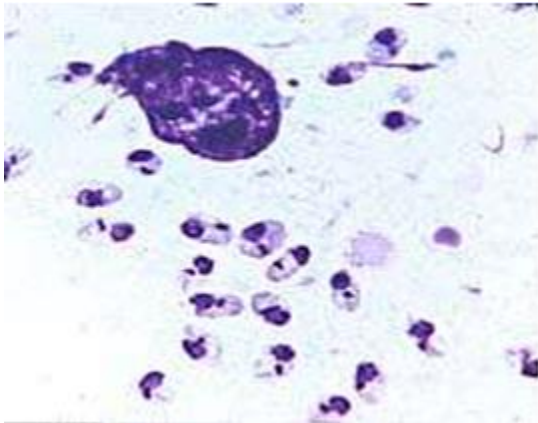
Sin embargo, animales silvestres como zarigüeyas, coatíes y jurumíes entre otros, son portadores asintomáticos del parásito, por lo que son considerados como animales reservorios.

El agente se transmite al humano y a los animales a través de la picadura de hembras de los jejenes, un grupo de insectos chupadores de sangre y diferentes de los mosquitos, pertenecientes a los géneros *Phlebotomus* del viejo mundo y *Lutzomyia* del nuevo mundo, de la familia *Psychodidae*. En Colombia, en ciertas regiones, este tipo de insectos es mejor conocido como palomilla. En las zonas tropicales de Ecuador se lo conoce como "arenillas".

VECTOR



AMSTIGOTE LEISHMANIA



10.1. TIPOS DE LEISHMANIASIS

- Leishmaniasis visceral o kala azar (*L. chagasi*)

Esta enfermedad se encuentra localizada en un 90% en la parte nordeste de la India, Sudán y Brasil. No solamente es transmitida por el jején, sino que también puede ser contagiada congénitamente o parenteralmente (transfusiones, agujas compartidas, etc). La infección se inicia en los macrófagos en el punto de la inoculación y se disemina a través del sistema mononuclear-fagocítico. El período de incubación suele ser varias semanas o meses y las manifestaciones son fiebre, caquexia, color gris de la piel (de ahí el término en hindi "kala-azar" -fiebre negra-

), esplenomegalia y hepatomegalias progresivas. También es común una linfadenopatía periférica. Los hallazgos de laboratorio asociados a una Leishmaniasis visceral avanzada, incluyen pancitopenia y trombocitopenia, con hipergammaglobulinemia e hipoalbuminemia.

Las personas con Leishmaniasis visceral pueden morir si no se tratan adecuadamente. El tratamiento incluye antimonio pentavalente y la formulación liposómica de anfotericina B. Lamitfosina en dosis de 100 a 150 mg/día ha estado asociada a un elevado índice de curaciones. Este fármaco está aprobado en la India para el tratamiento de la Leishmaniasis visceral.



- Leishmaniasis cutánea (*L. mexicana*, *L. amazonensis*)

El período de incubación oscila entre semanas y meses. La primera manifestación es una pápula en la picadura del jején. La lesión evoluciona a nodular y ulcerativa con una depresión central rodeada de un borde endurecido. Algunas lesiones pueden perdurar como nódulos o placas.

Otros signos o síntomas son otras lesiones múltiples primarias o satélite, adenopatías regionales, dolor, prurito e infecciones bacterianas secundarias. El diagnóstico se realiza mediante raspado de la lesión para el examen histológico o aspirado de los nódulos.



linfáticos para el cultivo del protozoo.

El tratamiento dependerá de si la diseminación a las mucosas es posible, así como de la localización, el número, el tamaño, la evolución y cronicidad de la lesión. Cuando se desea rapidez en la resolución de la lesión, el antimonio pentavalente es el recomendado.

- Leishmaniasis mucosa o mucocutánea (L. braziliensis, L. guayanensis, L. panamensis)

La Leishmaniasis de la mucosa naso-orofaríngea es relativamente poco frecuente. Los primerossíntomas son epistaxis, eritema y edema de la mucosa basal y luego una progresiva destrucción ulcerativa de la zona naso-orofaríngea. El tratamiento con antimonio pentavalente es moderadamente eficaz cuando la enfermedad está en los primeros estadios, pero puede fracasar en situaciones más avanzadas.



10.2. DIAGNOSTICO

El diagnóstico SIEMPRE debe confirmarse con la identificación parasitológica en todo paciente procedente de área endémica con antecedentes epidemiológicos (edad menor de 5 años) y cuadro clínico característico

- **EXAMEN DIRECTO: (sencillo, rápido, económico, sensible)**

- Seleccionar la lesión más reciente
- Tomar muestra del borde activo y del centro
- Se debe observar todo el extendido en detalle
- El resultado positivo confirma el diagnostico
- Un resultado negativo no descarta una leishmaniasis

- **REACCIÓN DE MONTENEGRO**

- No es un método diagnóstico. Es una herramienta útil.
- Prueba de hipersensibilidad retardada, no puede distinguir infecciones actuales de infecciones previas.
- Evidencia los casos con enfermedad activa 4> semanas de evolución.
- Altamente específica.
- Se han obtenido reacciones (-) en pacientes con paludismo, TBCpulmonar, lepra, blastomicosis y diversas dermatosis.



- **ASPIRADO BIOPSIA CON AGUJA FINA (BACAF)**

- Seleccionar la lesión más reciente
- Realizar un aspirado del borde de la lesión.

Requiere de experticia por parte del profesional de la salud.

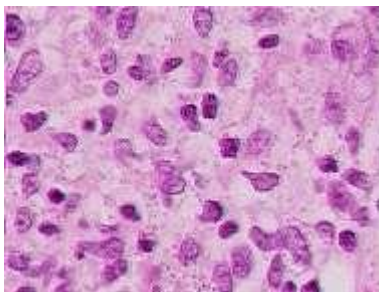


- **CULTIVOS DE CEPAS DE *Leishmania* s..p.. Se realizan con la finalidad de:**

- Obtener suficiente población del parásito.
- Utilizarlas en pruebas inmunodiagnósticas.
- Identificarlas bioquímicamente.

- **BIOPSIA**

- Se realiza con relativa facilidad
- Se puede remitir desde cualquier lugar.



VENTAJAS:

- Establece un diagnóstico concluyente.
 - Sugiere el Diagnóstico aún si los microorganismos no son demostrables.
- *** Cuando en caso sospechoso no se encuentran amastigotes en el E.D.

• PRUEBAS SEROLOGICAS

- Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)
- ELISA

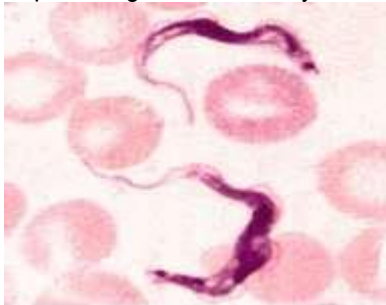
Poseen una alta sensibilidad y especificidad para el Diagnóstico.

El antígeno se prepara con cepas de referencia, colombianas, aisladas, mantenidas e identificadas en el INS

11. ENFERMEDAD DE CHAGAS

La enfermedad de Chagas, mal de Chagas-Mazza (debe su nombre a los médicos Carlos Chagas y Salvador Mazza) o tripanosomiasis americana, es una enfermedad parasitaria tropical, generalmente crónica, causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*. *Trypanosoma cruzi* es miembro del mismo género que el agente infeccioso causante de la enfermedad del sueño africana, y el mismo orden que el agente que causa la leishmaniasis, pero sus manifestaciones clínicas, distribución geográfica, ciclo de vida y su vector son considerablemente diferentes.


Tripomastigote de *T. cruzi*



triatominia



El reservorio natural lo constituyen los armadillos, marsupiales (*Didelphis* o zarigüeyas), roedores, murciélagos y primates silvestres, además de ciertos animales domésticos como perros, gatos, incluso ratas (*Rattus rattus*) y los cobayos; es transmitida al hombre comúnmente por triatominos hematófagos



como el *Triatoma infestans* (estos insectos llevan varios nombres de acuerdo al país, entre ellos, benchuca, vinchuca, kissing bug, chipo, chupança, barbeiro, chincha y chinches), el cual transmite el parásito cuando defeca sobre la picadura que él mismo ha realizado para alimentarse; también puede transmitirse por transfusión de sangre contaminada, por la ingesta de alimentos contaminados por el parásito o verticalmente de la madre infectada al feto.

El insecto que transmite esta enfermedad puede infectarse si pica a una persona que tenga la infección, y así adquirir la capacidad de seguir propagando este parásito.

11.1. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

En el hombre, la enfermedad presenta tres estados: la fase aguda, poco después de la infección, la fase indeterminada y la fase crónica que puede desarrollarse incluso pasados diez años.

En la fase aguda, un nódulo cutáneo local llamado chagoma puede aparecer en el sitio de inoculación. Cuando el sitio de inoculación es la membrana mucosa conjuntival, el paciente puede desarrollar edema periorbital unilateral, conjuntivitis y linfadenitis preauricular. Esta constelación de manifestaciones se refiere como signo de Romaña el cual está presente en muy pocos casos.³¹ La fase indeterminada suele ser asintomática, pero pueden presentarse fiebre, anorexia, linfadenopatía, hepatosplenomegalia leve y miocarditis. Algunos casos agudos (10 a 20%) se resuelven en un periodo de dos a tres meses dando lugar a una fase crónica asintomática ahora llamada fase indeterminada, la cual se caracteriza por la persistencia de la infección sin presentar problemas clínicos para reaparecer sólo varios años más tarde.

La fase crónica es sintomática y puede aparecer años o décadas después de la infección inicial. La enfermedad afecta al sistema nervioso, al sistema digestivo y al corazón. Infecciones crónicas dan como resultado desórdenes neurológicos como por ejemplo la demencia, daño en el músculo cardíaco (miocardiopatía) y algunas veces la dilatación del tracto digestivo (megacolon y megaesófago) así como también puede haber pérdida de peso. Problemas de deglución pueden desembocar en la desnutrición del paciente. Después de pasar varios años en un estado asintomático, 27% de aquellos infectados desarrollarán daños cardíacos, 6% tendrán daños digestivos y un 3% presentarán con trastornos del sistema nervioso periférico. Sin tratamiento, la enfermedad de Chagas puede ser mortal, por lo general debido al componente de miocardiopatía.

Signo de Romaña

Es un signo característico de la enfermedad de Chagas, producido por su principal vector, la vinchuca, en el momento en el que el mismo succiona sangre en la zona periorbital, y se produce la entrada del parásito a través de la conjuntiva



Está presente en el 20-50% de los casos agudos. Se presenta como un edema palpebral unilateral, sin dolor, frecuentemente acompañado de conjuntivitis y agrandamiento de nódulo linfático local. Este signo persiste por 30-60 días.

El signo de Romaña debe ser diferenciado de la reacción inflamatoria de la conjuntiva producida por el contacto con heces de Triatomas no infectados, la cual persiste solo por 3-7 días.

- Chagoma de Inoculación

Se lo relaciona directamente con el mal de Chagas ya que es una manifestación casi característica de ésta, aunque no se produce en todos los casos.

Se observa de preferencia en partes del cuerpo habitualmente descubiertas. Es de tamaño variable, casi siempre altera el colorido de la piel, tomando a veces el tinte simple de una mácula rosada, otras se asemejan a procesos piógenos (impétigo, ántrax, forúnculo, etc).

Es poco o nada doloroso, característica que permite diferenciarlos de los procesos piógenos citados que son siempre muy dolorosos. Puede semejar también la picadura de un insecto.

Este chagoma desaparece entre los 30 y 60 días de la enfermedad, pero el parásito sigue en la sangre.



11.2. DIAGNOSTICO

Métodos parasitológicos indirectos:

- Examen en fresco: una gota de sangre entre lamina y laminilla, se visualizan los parásitos móviles. En la fase aguda tiene una sensibilidad del 90%, en la crónica es de un 10%.
- Gota Gruesa: permite estudiar con un volumen mayor de sangre y es más útil que el extendido.
- Métodos de concentración:

- Strout: 90-100% de sensibilidad. Se usan capilares heparinizados y se deja que los eritrocitos de sedimenten espontáneamente.
- Bennet: sangre venosa citratada, se centrifuga; los paarasitos salen al plasma sanguíneo y se pueden observar al microscopio.
- Biopsia: útil cuando los parásitos no se encuentren en sangre circulante, se prefiere biopsia de ganglio linfático.

Métodos parasitológicos indirectos:

- Xenodiagnóstico: efectividad de 85-100% etapa aguda, 80% formas congénitas y 20-50% en las crónicas.
- Cultivo: medio LIT (Liver.Infusion-Tryptose), 40-50% de sensibilidad en etapa crónica.
- Inoculaciones en animales:

Procedimientos serológicos.

- Fijación del complemento (FC): sensibilidad del 20-40% en etapa aguda, más del 90% en crónica.
- Inmunofluorescencia Indirecta (IFI): más rápida y sencilla que la anterior. Se utiliza cuando la prueba de ELISA o hemaglutinación son positivas. Puede tener reacción cruzada con leishmaniasis.
- ELISA: útil en bancos de sangre. Detecta anticuerpos IgM o IgG. Su positividad se confirma con IFI.
- Hemaglutinación Indirecta (HAI): la sensibilidad es mayor en las fases crónicas que en las agudas.
- Prueba de látex: considerada como una prueba de tamizaje de pacientes.
- Aglutinación directa: Esta prueba es poco específica. Tiene especial valor para demostrar la presencia de anticuerpos en los estados agudos. El antígeno consiste en epimastigotes tratados con tripsina y formol.
- Factor EVI. Este procedimiento detecta anticuerpos circulantes que reaccionan en el endocardio, los vasos sanguíneos y el intersticio del músculo estriado, de lo cual se deriva el término EVI.

ELABORACIÓN INICIAL

CONTROL	FECHA	NOMBRES Y APELLIDO	CARGO
REALIZÓ	02-02-2021	Claudia Hernández Brujes	Bacterióloga
REVISÓ	02-02-2021	Verenise Santiago F.	Auditora de Calidad
APROBÓ	02-02-2021	Yelitza Ayala Redondo	Gerente

CONTROL DE MODIFICACIONES

NOMBRE DOCUMENTO	CÓDIGO	VERSIÓN	FECHA MODIFICACIÓN	MODIFICACIÓN REALIZADA	RESPONSABLE
MANUAL DE PARASITOLOGÍA	LABC-MA-011	01	02-02-2021	Todo el documento	Claudia Hernández Brujes