

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Validez de tres técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinales en pacientes con infección diarréica aguda. Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho, 2012.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGA
EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

PRESENTADO POR:

Bach. CHUCHÓN MENDIETA, CADIS MERY

AYACUCHO-PERÚ

2013

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

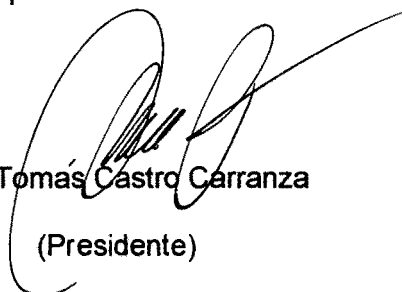
RDN° 123-2013-UNSCH-FCB-D

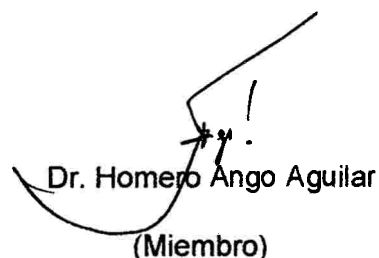
En la ciudad de Ayacucho siendo el día veinte y tres de Agosto del año dos mil trece se reunieron en el auditorium del departamento de la Facultad de Ciencias Biológicas. Siendo las cuatro y quince minutos se reunieron los miembros del jurado calificador del acto sustentatorio bajo la presidencia del señor Decano Dr. Tomas Castro Carranza e integrada por los docentes Dr. Homero Ango Aguilar, Mg. Rosa Grimaneza Guevara Montero, Mg. Víctor Luis cárdenas López y Biga. Ruth Elsa Huamán De la cruz, actuando como secretaria docente encargada la última docente mencionada con memorando N° 494 - 2013 - UNSCH - FCB, para recibir la sustentación de tesis, sustentada por la Bach. Chuchón Mendieta, Cadis Mery. La tesis titulada "Validación de tres técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinales en pacientes con infección diarreica aguda. Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho, 2012." Con este trabajo de investigación la mencionada Bachiller pretende obtar el título de Bióloga especialidad de Microbióloga. Como primer acto el presidente del jurado calificador hizo referente a la documentación existente y dio instrucciones a la sustentante antes de iniciar su exposición. Culminada la exposición el presidente del acto sustentatorio solicitó a los miembros del jurado calificador su participación para realizar sus observaciones, evaluación respuesta. Los miembros del jurado calificador participaron en el siguiente orden, en primer lugar lo hizo el cuarto jurado calificador la Biga. Ruth E. Huamán De la cruz, luego la Mg. Rosa G. Guevara Montero, Dr. Homero Ango Aguilar, Mg. Víctor L. Cárdenas López en calidad de Asesor de trabajo de investigación, culminada dicha etapa del proceso de sustentación, el Dr. Tomas Castro Carranza invitó a la sustentante y al público en general a abandonar el


auditórium para que el jurado calificador pueda deliberar en privado y asignar a la sustentante una calificación la misma que fue la siguiente:

Jurado calificador	Exposición	Rta/ preguntas	Promedio
Dr. Tomas Castro Carranza	18	16	17
Dr. Homero Ango Aguilar	16	16	16
Mg. Rosa G. Guevara Montero	17	15	16
Mg. Víctor Luis Cárdenas López	18	18	18
Blga. Ruth E. Huamán De la cruz	17	16	16
Promedio final			17

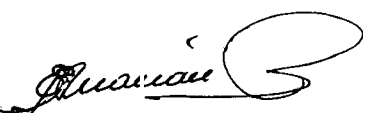
De la evaluación realizada la sustentante obtuvo la nota de promedio de diecisiete (17) de la cual dan fé los miembros del jurado calificador estampando su firma al pie de la presente acta. Culminado el acto de sustentación siendo las seis p.m


Dr. Tomas Castro Carranza
(Presidente)


Dr. Homero Ango Aguilar
(Miembro)


Mg. Rosa G. Guevara Montero,
(Miembro)


Mg. Víctor L. Cárdenas López
(Miembro - asesor)


Blga. Ruth E. Huamán De la cruz
(Miembro – secretaria (e))

DEDICATORIA

A mis padres María y Melquiades

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ciencias Biológicas y Escuela de Formación Profesional de Biología, por haberme acogido y brindado la oportunidad de formarme como profesional.

A mis asesores Blgo. Mg. Víctor Luis Cárdenas López y Blga. Lucía Ccorahua Tacsí que me brindaron el apoyo necesario para realizar este trabajo.

Al docente de la especialidad de Microbiología. Blgo Dr. Homero Ango Aguilar

Al Jefe de Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho Dr. Luis Eusebio Huamaní Berrocal, mis más sinceros agradecimientos por haberme orientado a aplicar mis conocimientos aprendidos en las aulas universitarias y además enseñarme que un biólogo debe estar preparado para las circunstancias más difíciles que se le presenten sin dejar de lado la ética profesional.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	03
2.1 Antecedentes	03
2.2 Infecciones Diarreicas Agudas (IDAS)	07
2.3 Phylum Apicomplexa	08
2.4 Manifestaciones clínicas	15
2.5 Epidemiología	16
2.6 Transmisión	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1 Ubicación del lugar de estudio	20
3.2 Diseño metodológico para la recolección de datos	20
3.3 Análisis estadístico	26
IV. RESULTADOS	27
V. DISCUSIÓN	30
VI. CONCLUSIONES	33
VII. RECOMENDACIONES	34
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	38

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Diferencia estructural y morfológica de los coccidios intestinales	18
Tabla 2.	Representación de una tabla de contingencia de 2x2	19
Tabla 3.	Comparación de técnicas de flotación de Willis y de Baerman según número de pacientes positivos con coccidiosis intestinales. Ayacucho, 2012.	28
Tabla 4.	Comparación de técnicas de sedimentación espontánea de Tello y de Baerman según número de pacientes positivos con coccidiosis intestinales. Ayacucho, 2012.	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Taxonomía de coccidios	08
Figura 2. Ooquistes de <i>Cryptosporidium parvum</i> en heces humanas.	10
Figura 3. Ooquiste de <i>Cyclospora cayatanansis</i> en heces humanas	12
Figura 4. Ooquiste de <i>Isoospora belli</i> en heces humanas.	15
Figura 5. Porcentaje de casos positivos de coccidios intestinales según técnicas coproparasitológicas. Ayacucho, 2012.	27

ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág.
Anexo 1.	Comparación de tres técnicas de concentración de heces según Kruskal Wallis.	39
Anexo 2.	Concentración de ooquistes de coccidios intestinales según técnicas.	40
Anexo 3.	Frecuencia de infección por coccidios intestinales según edades. Ayacucho, 2012.	41
Anexo 4.	Frecuencia de infección por coccidios intestinales según sexo. Ayacucho, 2012.	42
Anexo 5.	Frecuencia de coccidiosis intestinales según especies. Ayacucho, 2012.	43
Anexo 6.	Ficha de encuesta	44
Anexo 7.	Ciclo biológico de <i>Cryptosporidium parvum</i>	45
Anexo 8.	Ciclo biológico de <i>Cyclospora cayetanensis</i>	46
Anexo 9.	Ciclo biológico de <i>Isospora belli</i>	47
Anexo 10.	Flujograma de la técnica de flotación de Willis	48
Anexo 11.	Flujograma de la técnica de sedimentación espontánea de Tello	49
Anexo 12.	Flujograma de la técnica de sedimentación de Baerman modificada en copa por Lumbreras	50
Anexo 13.	Flujograma de la coloración Ziehl Neelsen modificada	51
Anexo 14.	Matriz de consistencia	52

RESUMEN

Los coccidios intestinales son uno de los causantes de las infecciones diarreicas agudas. Para el diagnóstico de estas parasitosis el personal de laboratorio no tiene en conocimiento la técnica de mayor sensibilidad y especificidad para concentrar ooquistes, por lo cual el presente estudio tuvo como objetivo determinar que técnica de concentración (Willis, Tello y Baerman) es más efectiva para la concentración de ooquistes en muestras de heces diarreicas. El presente estudio se llevó a cabo en el Hospital Regional de Ayacucho en el Área de Parasitología del Laboratorio de Patología Clínica. El tipo de investigación fue descriptiva. Se recolectaron 100 muestras fecales de pacientes con infecciones diarreicas aguda las cuales fueron procesadas por las técnicas de Willis¹, sedimentación espontánea de Tello² y Baerman modificada en copa por Lumbreras³. La identificación de ooquistes se realizó mediante coloración de Ziehl Neelsen modificada. El número de ooquistes concentrados por cada técnica fue cuantificado en 20 campos a 100X. Según los resultados la técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras mostró un mayor rendimiento 12 % en comparación con la técnica de sedimentación espontánea de Tello 7 % y la técnica de flotación de Willis 5 %. La técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras confirmó ser un método de concentración de alto rendimiento, y se convierte en una alternativa aplicable sencilla, de bajo costo y eficiente en la detección de ooquistes de estos protozoarios.

Palabras clave: Coccidios, infecciones diarreicas agudas, técnicas de concentración.

I. INTRODUCCIÓN

Las Infecciones Diarreicas Agudas (IDAS) continúan siendo uno de los principales problemas de salud pública en los países en desarrollo, constituyendo una de las causas principales de mortalidad y morbilidad en el mundo, específicamente en zonas con condiciones de pobreza. En la región de las Américas, las enfermedades diarreicas se encuentran entre las cinco primeras causas de muerte en todas las edades.⁴

En el Perú, hasta junio de 2012, se registraron cerca de 105 mil 321 episodios de infecciones diarreicas agudas (95% como IDAS acuosa) a nivel nacional, y cuya tasa de incidencia durante ese periodo fue de 34 episodios por cada 10 mil habitantes. Moquegua, Pasco y Amazonas son los departamentos que reportaron las tasas más altas encontrándose la mayoría de casos en niños de 0 a 11 años de edad.⁵

Tras el último reporte de la oficina de Epidemiología de la Dirección Regional de Salud (DIRESA), fueron atendidos 4 mil 230 emergencias por infecciones diarreicas agudas en niños menores de cinco años en los centros de salud y hospitales del departamento de Ayacucho. Según el reporte, la provincia de Huamanga registra mayor número de emergencias, con mil 769 casos, Huanta registra 658 emergencias, La Mar 471, Lucanas 362 y Cangallo 213 emergencias.⁶

En este estudio nos enfocamos en diarreas ocasionadas por parásitos, en especial protozoarios esporulados llamados coccidios intestinales que son uno de los causantes de las infecciones diarreicas agudas que afectan tanto a pacientes inmunocompetentes como en inmunosuprimidos.⁷ Para su diagnóstico se efectúa la búsqueda e identificación de ooquistes a través de técnicas coproparasitológicas de sedimentación y de técnicas de coloración como el Ziehl Neelsen modificado. El presente estudio se llevó a cabo en el Hospital Regional de Ayacucho en el Área de Parasitología del Laboratorio de Patología Clínica, donde se procesaron 100 muestras fecales con las técnicas de Willis¹ sedimentación espontánea de Tello² y Baerman modificada en copa por Lumbreras.³

Objetivo General:

Determinar que técnica de concentración (Willis, Tello y Baerman) resulta más efectiva para el diagnóstico de coccidiosis intestinal en pacientes con infección diarreica aguda que acuden al Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho.

Objetivos Específicos:

- Determinar la sensibilidad de cada una de las técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal.
- Determinar la especificidad de cada una de las técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal.
- Determinar el valor predictivo positivo de cada una de las técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal.
- Determinar el valor predictivo negativo de cada una de las técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Córdova *et al.*⁸ compararon tres métodos de concentración de heces para recuperar ooquistes de *Cryptosporidium* en terneros en La Plata, Argentina, en los meses de julio a setiembre, llegándose a estudiar un total de 166 terneros. Una única muestra de materia fecal fresca fue analizada por los métodos de Telemann modificado, agua éter, y Tris Tween 80. La identificación de ooquistes fue realizada mediante coloración de Kinyoun modificada. El número de ooquistes concentrados por cada técnica fue cuantificado en 20 campos a 1000X. Del total de muestras analizadas, 22/166 fueron positivas para *Cryptosporidium*. El número medio de ooquistes recuperados por cada técnica fue: Telemann modificada (124,2±159,5), agua éter (153,0±156,3), tris Tween 80 (92,2±98,3). Si bien los tres métodos presentaron igual sensibilidad y especificidad, la técnica de agua éter demostró ser sencilla, de bajo costo, y efectiva para recuperar ooquistes, particularmente si se requiere conservar la viabilidad de los mismos.

Girard⁹ comparó las características epidemiológicas y de diagnóstico entre *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli* y *Cyclospora cayetanensis* en población hospitalaria Tegucigalpa- Honduras. Analizó un total de 4 698 muestras con la

técnica de concentración de Sheather. El reconocimiento de ooquistes de los coccidios fue con la tinción ácido resistente modificada (ARM) observados con el objetivo de inmersión 100X. Se diagnosticaron 234 casos de *Cryptosporidium parvum*, 114 de *Isospora belli* y 96 de *Cyclospora cayetanensis*. *Cryptosporidium parvum* prevaleció en niños menores de 2 años y en individuos con SIDA, *Cyclospora cayetanensis* fue en niños mayores y entre adultos; *Isospora belli* es un marcador de inmunocompromiso importante.

Sabiión¹⁰ realizó un estudio de las observaciones clínicas en niños con gastroenteritis y cryptosporidiosis en Tegucigalpa Honduras, entre agosto de 1998 a setiembre del 2000. De 1 581 exámenes se estudiaron 23 de 50 casos positivos por *Cryptosporidium parvum*. El 43,6% era de sexo femenino y 56,5% de sexo masculino. *C. parvum* se diagnosticó en 19/23 (82,6 %) niños menores de 2 años y en 4/23 (17,3 %) niños entre 24 y 36 meses; la cual se coloreó con el método ácido resistente modificado después de haberse examinado en un frote directo en solución salina y solución yodada de lugol.

Capó de Paz *et al.*¹¹ para el diagnóstico de Coccidios y Micrósporas en muestras de heces diarreicas de pacientes cubanos seropositivos al VIH, analizaron un total de 170 muestras de diarreas líquidas en un período de 6 meses. De estas muestras, 51 (30 %) resultaron positivas para al menos un tipo de protozoo parasitario. El más frecuente fue *Cryptosporidium parvum* (n=35; 20,58 %) seguido de Micróspora (n=12; 7,05 %), *I. belli* (n=8; 4,70 %) y *C. cayetanensis* (n= 6; 3,53 %).

Devera *et al.*¹² realizaron un estudio entre agosto y octubre de 2006 con el objetivo de determinar la prevalencia de coccidios intestinales en niños menores de cinco años con diarrea, atendidos en la emergencia pediátrica del Hospital Universitario "Ruiz y Páez" en Ciudad Bolívar, Venezuela. Las muestras fecales obtenidas de cada paciente fueron sometidas a las técnicas de examen directo,

formol-éter y coloración de Kinyoun. Se examinaron 130 muestras fecales, 60 eran niñas (46,2 %) y 70 niños (53,8 %) con una edad media de $2 \pm 1,4$ años. La prevalencia de coccidios intestinales fue de 12,3 %, siendo *Cryptosporidium parvum* el más frecuente con 10 casos (7,7 %), seguido de *Cyclospora cayetanensis* con seis casos (4,6 %).

Requena *et al.*¹³ realizaron un estudio transversal para determinar la prevalencia de coccidios intestinales en pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana en Ciudad Bolívar, Venezuela, entre enero y diciembre de 2007. Obtuvieron 41 muestras fecales las cuales fueron procesadas mediante la técnica de formol-éter. Con una alícuota del sedimento obtenido en esta técnica se realizó la coloración de Kinyoun. La prevalencia global de coccidios fue de 63,4 % (29/41), *Cryptosporidium parvum* fue el coccidio más frecuente con 34,2 % (11 casos ocurrieron entre VIH positivos y uno en paciente con SIDA). La prevalencia de *Isospora belli* fue de 24,4 % (9 casos entre VIH positivos y uno en paciente con SIDA). Finalmente, la prevalencia de *Cyclospora cayetanensis* fue de 19,5 % (4 casos en pacientes VIH positivos y otros 4 en pacientes con SIDA). El 22 % (12/41) estuvieron asociados a otros parásitos, destacando los protozoarios *Blastocystis hominis* y *Endolimax nana*.

Huiza *et al.*¹⁴ realizaron un estudio titulado detección de coccidios en niños asintomáticos mediante esporulación de muestras fecales en el Asentamiento Humano "Las Casuarinas de Villa" del distrito de Villa María del Triunfo en la zona sur de Lima Metropolitana. Recolectaron 79 muestras fecales de niños asintomáticos de siete meses a siete años de edad las cuales fueron procesadas mediante el método directo y coloración con la técnica de Kinyoun. Una parte de la muestra se colocó en frascos con bicromato de potasio al 2,5 % para la esporulación. Después de diez días, se preparó frotis para colorearlos con

Kinyoun. El examen directo detectó una muestra con *Cryptosporidium parvum* (1,3 %); en los frotis coloreados previa esporulación se encontró 3 muestras con *Cryptosporidium parvum* (3,8%) y una con *Isospora belli* (1,3 %) y en los frotis coloreados postesporulación se detectó 6 muestras con *Cryptosporidium parvum* (7,6 %) y una con *Isospora belli*. En conclusión la esporulación permitió aumentar la posibilidad de detectar casos con coccidios.

Ríos *et al.*¹⁵ realizaron un trabajo titulado *Cryptosporidium*, *Cyclospora* y *Giardia lamblia* en niños menores de diez años de edad de los caseríos Zúngaro cocha y Puerto Almendras en Loreto, Perú. De mayo a diciembre del 2002 en un total de 230 niños. Teniendo como finalidad determinar la prevalencia de *Cryptosporidium sp.*, *Cyclospora sp.* y *Giardia lamblia*. Para el diagnóstico coproparasitológico utilizaron el método directo para *Giardia lamblia* y concentración por sedimentación de Ritchie con coloración alcohol ácido resistente de Kinyoun para coccidios. La prevalencia registrada en Zúngaro cocha fue: *Cryptosporidium sp.* 5,23 %, *Cyclospora sp.* 4,65 % y *Giardia lamblia* 26,74 % y en Puerto Almendra la prevalencia fue: *Giardia lamblia* 22,4 %, *Cryptosporidium sp.* y *Cyclospora sp.*, 0,0 %, respectivamente.

García¹⁶ estudió la Prevalencia de *Cryptosporidium sp.* en 63 niños menores de diez años en la comunidad campesina de Totorá, Distrito de Jesús Nazareno, Ayacucho. Las muestras fecales las procesó con la técnica de sedimentación espontánea de Tello con coloración Ziehl Neelsen modificado resultando 19 casos de *Cryptosporidiosis*, de los cuales 12 (30,8 %) casos en niños de uno a seis años, 7 (29,2 %) en niños de siete a diez años, de las cuales 8 (24,2 %) casos en niñas y 11 (36,7 %) en niños.

Allcca¹⁷ estudió la prevalencia de *Blastocystis hominis* y *Cryptosporidium sp.* en 226 niños del nivel primario de la Institución educativa Melitón Carbajal. Distrito

de Ayacucho. Las muestras fecales las procesó con la técnica de sedimentación espontánea de Tello y coloreadas con la tinción de Ziehl Neelsen modificada, reportando 71,68 % de prevalencia de *Blastocystis hominis*, 12,39 % de *Cryptosporidium sp.* y el 15,93 % con otros enteroparásitos.

2.2 Infecciones Diarreicas Agudas (IDAS)

La infección diarreica aguda se puede definir como un cambio súbito en el patrón de evacuación intestinal normal del individuo, caracterizado por aumento en la frecuencia o disminución en la consistencia de las deposiciones. Para ser considerada como aguda, su aparición debe tener menos de tres semanas. La causa más importante y frecuente de IDA es la infección entero-cólica ocasionadas por muy diversos organismos bacterianos, víricos y parásitos, la mayoría de los cuales se transmiten por alimentos o agua con contaminación fecal, o bien de una persona a otra como resultado de una higiene deficiente; algunos manifiestan cuadros graves, otros síntomas moderados y otros son asintomáticos. Los niños malnutridos o inmunodeprimidos son los que presentan mayor riesgo de enfermedades diarreicas potencialmente mortales.¹⁸

Según la OMS¹⁹ los factores que contribuyen son:

- Falta de servicios (agua potable, drenaje, saneamiento inadecuado)
- Bajo nivel económico y educación de la población
- Educación nula y malos hábitos higiénico - dietéticos
- Desnutrición
- Deficiente control sanitario a los preparadores de alimentos
- Integridad de los mecanismos de resistencia

Manifestación clínica

- Inicia como un cuadro agudo que se prolonga por > de 14 días
- Pérdida de peso

- Aumento en el volumen de las evacuaciones
- Deshidratación.

2.3 Phylum Apicomplexa

Los protozoarios comprendidos dentro de este Phylum reúnen una serie de características comunes tanto morfológicas como biológicas que los distinguen de otros grupos.

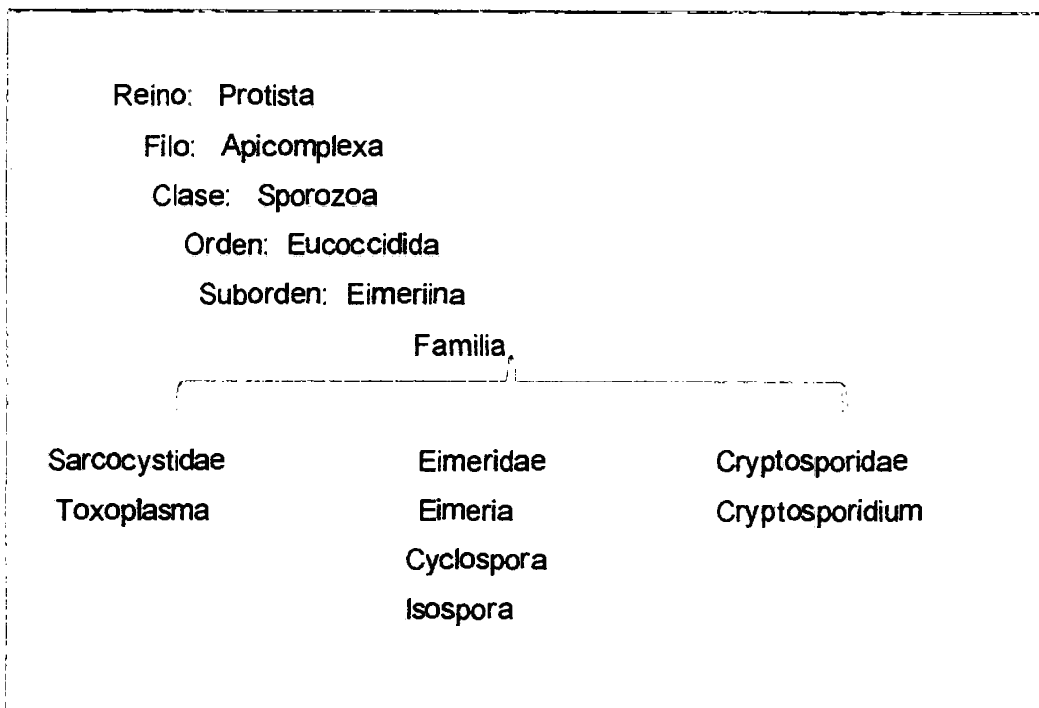


Figura 1. Taxonomía de coccidios

Fuente: Ortega *et al.*²¹

Cárdenas²⁰ señala las siguientes características:

- Existencia de una organela exclusiva, el complejo apical siempre presente en todos los zoitos destinados a penetrar al interior de algunas células para proseguir en él su evolución intracitoplasmática.
- Un parasitismo intracelular, por lo menos durante sus fases o estadios de multiplicación sexual.

- Un ciclo biológico meta cíclico, durante el cual se suceden tres fases: una de multiplicación asexual o agamogónica, una de formación de gametos o gamogónica que termina con la formación de un cigoto; y una tercera la esporogónica, durante la cual, y a partir de divisiones del cigoto, se forman los esporozoítos.
- Un ciclo biológico meta cíclico, durante el cual se suceden tres fases: una de multiplicación asexual o agamogónica, una de formación de gametos o gamogónica que termina con la formación de un cigoto; y una tercera la esporogónica, durante la cual, y a partir de divisiones del cigoto, se forman los esporozoítos.

2.3.1 *Cryptosporidium parvum*

Con distribución universal que pueden producir infección en animales y humanos. Se produce por ingesta de ooquistes procedentes de alimentos y aguas contaminadas (piscinas comunitarias, parques acuáticos, aguas de lagos y pantanos) o por vía feco-oral. Tras la ingesta de ooquistes en alimentos o aguas contaminados, se liberan esporozoítos con capacidad de unirse a los bordes en cepillo de las células epiteliales intestinales, en donde pueden reproducirse asexual o sexualmente (esta última mediante formación de micro y macrogametos, su unión y la formación de nuevos ooquistes) para ser eliminados posteriormente junto a la materia fecal y perpetuar la posibilidad de infección.²²

Morfología

La forma diagnóstica en materia fecal de *Cryptosporidium parvum* corresponde a la forma de ooquiste, que aparece como una estructura esférica o ligeramente ovoidal que mide de 4 a 6 micras de diámetro. Cuando se observa en el microscopio de contraste de fases se percibe una doble pared y una estructura

interna formada por cuatro esporozoítos vermiformes y cuerpos residuales que no son claramente visibles. Pueden observarse varios tipos de ooquistes: ooquistes no esporulados y ooquistes esporulados, en los cuales en muchos casos es posible observar los esporozoítos como líneas transversales claras y el cuerpo residual como una mancha oscura excéntrica cuando están teñidos con Ziehl Neelsen modificado.²³

Diagnóstico

Mediante visualización de ooquistes en materia fecal. También se utiliza frecuentemente técnicas de ELISA en muestra fecal con alta sensibilidad y especificidad.²³



Figura 2. Ooquistes de *Cryptosporidium parvum* en heces humanas.

Fuente: Fayer²⁴

Ciclo biológico

Se inicia con la ingestión de estos ooquistes y con la liberación de los esporozoítos una vez llegados aquellos al intestino. Una vez libres, los esporozoítos penetran en las células enteroepiteliales, pasando a su citoplasma superficial englobados por la membrana plasmática de la misma, que les rodea y aísla del citoplasma formando la vacuola parasitófora. Inician allí un primer ciclo merogónico que da origen a ocho merozoítos que por rotura de la célula

hospedadora, quedan libres en la luz del intestino y que penetrando en nuevas células enteroepiteliales, inician un segundo ciclo merogónico que se diferencia del anterior por dar origen cada meronte a tan solo cuatro merozoítos.

A partir de las formas resultantes del mismo, y tras invadir estas a nuevas células, tiene ya lugar el ciclo gamogónico. Los microgamontes (esporozoíto macho) dan origen a 14 - 16 microgametos flagelados que quedan libres y pasan a fecundar a los macrogametos (esporozoíto hembra) alojados todavía en otros enterocitos. Una vez realizada la fecundación, se forma la cubierta ooquistica alrededor de los cigotos, dando lugar a dos tipos de ooquistes, ambos conteniendo cuatro esporozoítos al madurar. Unos de estos ooquistes, dotados de gruesa pared, arrastrados por el contenido intestinal y evacuados al exterior con la defecación, tendrán a su cargo la infección de nuevos hospedadores por vía oral, a través de un ciclo de infestación exógeno. Los ooquistes del segundo tipo, no presentes en las defecaciones, se distinguen de los anteriores por su fina pared y por dejar en libertad a los esporozoítos en la luz intestinal. Estos esporozoítos, al penetrar en otras células enteroepiteliales, dan lugar a un ciclo de autoinfestación endógeno, porque a partir de ellos se originan nuevos ciclos merogónico, gamogónicos y esporogónicos que a través de su sucesión indefinida son responsables de una prolongada persistencia del parasitismo, si bien este proceso solo se prolonga en sujetos afectos por un estado de inmunodepresión, en tanto que es autolimitado en aquellos cuyo estado inmunitario es normal, o sea en sujetos inmunocompetentes.²⁵

2.3.2 *Cyclospora cayetanensis*

Coccidio recientemente identificado, con localización intracelular dentro de vacuolas de células epiteliales del intestino, responsable de infecciones entéricas humanas con síntomas similares a las que produce la cryptosporidiosis, aunque más prolongada y acompañada de anorexia y fatiga. *Cyclospora sp.* se ha

notificado en Norteamérica, Islas Caribeñas, Europa Oriental, India, África Sur y Asia Oriental con promedios que varían desde 0,5 al 18 %; describiéndose endemividad en algunos países subdesarrollados como Nepal, Haití y Perú.²⁶

Morfología

Al examinar las heces en fresco que contienen ooquistes de *Cyclospora cayetanensis*, estos se ven como esferas hialinas. Cuando esporulan, en su interior se encuentran dos esporoquistes, cada uno con dos esporozoítos. Como los ooquistes de *Cryptosporidium* e *Isospora*, son ácido-alcohol resistente. Los ooquistes se eliminan en las heces y tienen un tamaño entre 8 a 10 micras de diámetro.²⁷

Diagnóstico

El diagnóstico de certeza se realiza con la observación de los ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* en las heces de los pacientes, o por la visualización del parásito en material de biopsia. Es preciso recoger varias muestras de heces, que se deben estudiar en fresco y con tinción ácido-alcohol modificado (Kinyoun). Se observan estructuras esféricas de 8 a 10 micras de diámetro.²⁸

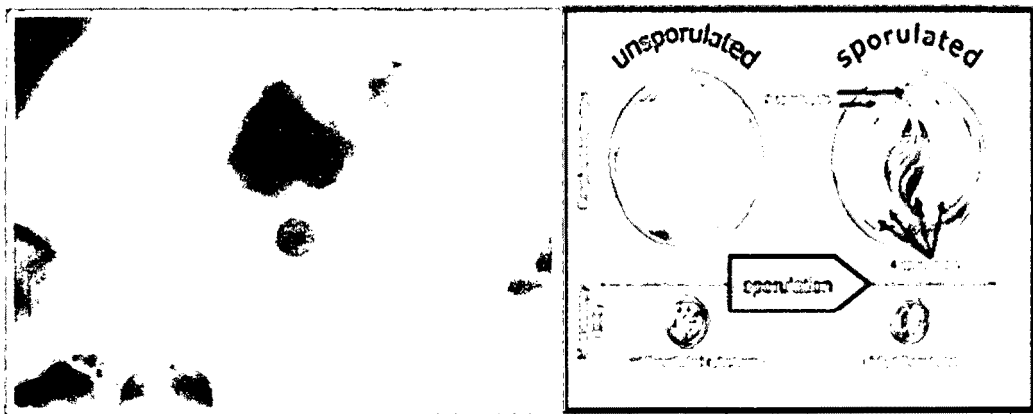


Figura 3. Ooquiste de *Cyclospora cayetanensis* en heces humanas.

Fuente: Colomina y Villar²⁸

Ciclo biológico

Este organismo realiza un ciclo enteroepitelial y monoxénico funcionalmente complejo como el de los restantes Apicomplexa, con alternancia de ciclos de reproducción asexual, esquizogónico o merogónico, y de reproducción sexual, esporogónico o gamogónico.¹⁷

Ciclo de reproducción asexual

Se inicia tras la ingestión de los ooquistes maduros, y se reproducen los siguientes eventos:¹⁷

- a) Exquistación de los ooquistes en el duodeno y liberación de los cuatro esporozoítos, por ooquiste.
- b) Fijación de los esporozoítos en la membrana de los enterocitos del intestino delgado e internalización por medio de la vacuola parasitófora.
- c) División esquizogónica de los esporozoítos en el interior de las vacuolas parasitóforas localizadas en el polo luminal y formación de meróntes de tipo I, con ocho a doce merozoítos.
- d) Liberación de los merozoítos, infección de nuevos enterocitos e inicio de nuevos ciclos esquizogónicos.
- e) En un momento dado, la esquizogonia genera merontes de tipo II, con cuatro merozoítos gamontes.

Ciclo de reproducción sexual

Se inicia con la liberación de los merozoítos gamontes, y se caracteriza por:¹⁷

- a) Penetración de los merozoítos gamontes en los enterocitos, y su diferenciación en gametos macho, o microgametos, y gametos hembra, o macrogametos.
- b) Maduración de los gametos en macro y microgametocitos, y posterior fecundación.

c) Transformación de los macrogametocitos fecundados en ooquistes y su liberación a la luz intestinal. Los ooquistes liberados son inmaduros contienen un esporoblasto, y la esporulación o maduración se realiza en el exterior del tubo digestivo.

Estas evidencias, unidas a la ausencia de invasión tisular, han sugerido la posibilidad de que este proceso estuviese mediado por una enterotoxina.

2.3.3 *Isospora belli*

Coccidio que ha tomado importancia en los últimos años, por ser frecuente y por presentar sintomatología grave en inmunodeficientes. Hay muchas especies de *Isospora* que infectan a los animales, pero la única especie que infecta al hombre es *Isospora belli*, y el hombre es el único hospedador conocido de esta especie.²³

Morfología

Los ooquistes de *Isospora belli* son eliminados junto a las materias fecales. Poseen estructuras de color blanco transparente, con membrana delgada y de forma oval, miden 28 μm de largo y 13 μm de ancho. El ooquiste encierra dos esporoquistes subesféricos cada uno con cuatro esporozoítos fusiformes.²⁹

Diagnóstico

Los ooquistes de *Isospora belli* son fácilmente distinguidos de otros coccidios como *Cryptosporidium* y *Cyclospora*, por su gran tamaño y su forma elíptica. Por lo que se recomiendan tinciones como la de Ziehl-Neelsen modificada, lo cual facilita la observación microscópica.³⁰

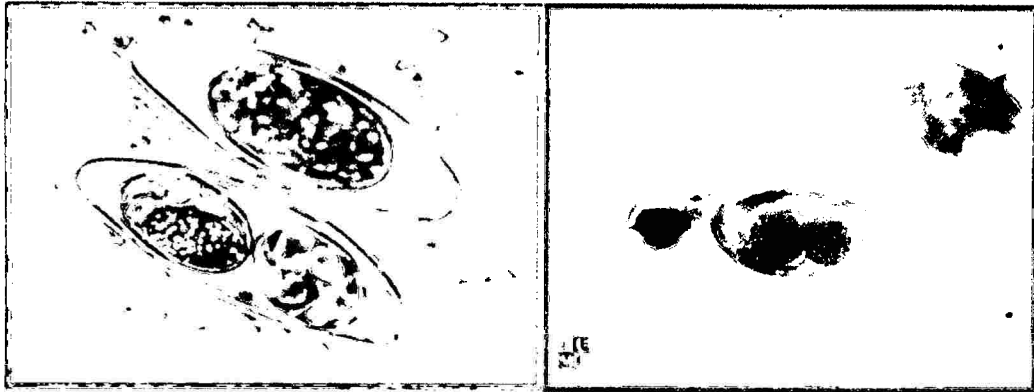


Figura 4. Ooquiste de *Isospora belli* en heces humanas.

Fuente: Levine ²⁶

Ciclo biológico

La transmisión se hace por vía oral al ingerir ooquistes maduros. En la región duodeno-yeyunal se produce desenquistación y se liberan los esporozoítos que invaden las células epiteliales (enterocitos), donde se reproducen asexualmente para formar merontes (esquizontes); estos al reventar dan lugar a muchos merozoítos, que infectan nuevas células. Algunos merozoítos están determinados para iniciar la reproducción sexual, para lo cual se convierten en gametocitos macho y hembra que a su vez pasan a micro y macrogametos, con capacidad de fertilización. La unión de estas células origina un cigote que toma el nombre de ooquiste y constituye el estadio diagnóstico al examen coprológico. Este ooquiste madura en el medio ambiente para formar en su interior dos esporoquistes. Este estado es la forma infectante.¹⁷

2.4 Manifestaciones clínicas

La infección se presenta en dos formas según el estado inmunológico del hospedero.³¹

a) En los inmunocompetentes, el periodo de incubación varía entre tres y doce días. La sintomatología puede fluctuar entre la sensación de indigestión y un

cuadro de enteritis con diarrea de tipo agudo o crónico. Algunas personas pueden tener la infección totalmente asintomática. En otras aparece la diarrea pero la infección se autolimita. Algunos autores la asocian con el síndrome conocido como diarrea del viajero.

La diarrea generalmente es acuosa, sin moco ni sangre, la mayoría de las veces sin leucocitos, se presenta con cinco a diez episodios diarreicos al día. En niños con diarrea intensa o crónica, se puede asociar a deshidratación. Los pacientes se quejan de dolores abdominales, ocasionalmente fiebre y pérdida de peso. Generalmente la enfermedad se autolimita a diez a catorce días. En una cuarta parte de los pacientes puede llegar a más de un mes. La mayoría de los casos no requiere de tratamiento. Los parásitos desaparecen entre cuatro y seis semanas.

b) En los pacientes con deficiencias inmunes, los síntomas son más intensos y de larga duración. La diarrea es crónica y ocurre una enfermedad debilitante con malestar, anorexia y fiebre. Hay pérdida de líquidos y electrolitos. También puede haber síndrome de malabsorción que compromete seriamente el estado general. En los pacientes con SIDA, además de la localización intestinal, se ha encontrado diseminación con complicación pulmonar. Causa una neumonía intersticial con eliminación de parásitos que pueden salir con el esputo. La enfermedad es más frecuente en los pacientes con SIDA, pero también ocurren otras inmunodeficiencias como la hipogammaglobulemia, terapia inmunosupresora, desnutrición, leucemia, linfoma y otros defectos de la inmunidad.³¹

2.5 Epidemiología

La coccidiosis intestinal es endémica en: Bangladesh, Brasil, Chile, Cuba, República Dominicana, Egipto, Guatemala, Haití, India, Indonesia, México, Nepal, Nigeria, Perú, Tanzania, Tailandia y Venezuela. Los factores de riesgo

identificados en el estudio de comunidades en Latinoamérica son la deficiencia de servicios sanitarios, fecalismo al aire libre, contaminación de agua de riego y de consumo humano, la edad, siendo la infección más frecuente en niños en edad escolar, con mayor exposición al medio ambiente. Un estudio reciente ofrece evidencia de que el contacto con tierra contaminada puede ser un factor importante. Los focos epidémicos en países desarrollados se asocian con mayor frecuencia a la ingesta de productos alimenticios perecederos importados, tales como frambuesas, zarzamoras, albahaca, chícharos, lechugas de Latinoamérica; sin embargo, también hay reportes de brotes ocasionados por productos locales en dichos países. Tanto los brotes epidémicos como lo endémico se han relacionado de manera importante con la contaminación de diferentes fuentes de agua. Las manifestaciones clínicas suelen ser mucho más severas en sujetos inmunocomprometidos (VIH+, entre otros).³²

2.6 Transmisión

La ingestión de ooquistes esporulados viables es la única manera natural de transmisión. Las fuentes más probables de infección son el saneamiento deficiente, alimentos y agua contaminados fecalmente. Las aves silvestres, los roedores, el hombre, etc. suelen ser portadores que difunden la enfermedad ya que los coccidios se encuentran ampliamente diseminados en la naturaleza. El periodo de incubación varía de seis a doce días, de acuerdo a la especie que se trate.³³

Tabla 1. Diferencia estructural y morfológica de los coccidios intestinales

Especie	Tamaño de ooquiste	Forma	Diagnóstico
<i>Cryptosporidium parvum</i>	4 a 6 µm de diámetro	Cuando se observa con microscopía de contraste de fases se ve de estructura esférica o ligeramente ovoidal que posee una doble pared y una estructura interna formada por 4 esporozoitos vermiformes.	A. Demostración parasitológico <ul style="list-style-type: none"> • Visualización de esporozoitos en secreciones y biopsia intestinal. • Demostración de ooquistes en heces <ol style="list-style-type: none"> 1. Método de concentración
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	8 a 10 µm de diámetro	Se observa como esferas hialinas. Cuando esporulan en su interior se encuentran 2 esporoquistes cada uno con 2 esporozoitos.	<ol style="list-style-type: none"> 2. Coloraciones (ZNm, Safranina, quimiolumincentes) B. Detección de antígenos en heces Kit comerciales (IFI, IFD, ELISA)
<i>Isospora belli</i>	28 a 33µm de diámetro	De aspecto ovoide alargado o algo piriforme por la atenuación de uno o ambos polos. El ooquiste encierra dos esporoquistes sub esféricos y dentro de cada una de estas se encierran 4 esporozoitos.	C. Diagnóstico inmunológico IFI AC Monoclonales y policlonales, ELISA, Inmunoblót (Wester blot). D. Electroforesis E. Biología Molecular: PCR

Fuente: Zinsser ³³

2.7 Validez de una prueba diagnóstica: sensibilidad y especificidad

El caso más sencillo que se nos puede plantear es el de una prueba dicotómica, que clasifica a cada paciente como sano o enfermo en función de que el resultado de la prueba sea positivo o negativo. En casos como éste, generalmente un resultado positivo se asocia con la presencia de enfermedad y un resultado negativo con la ausencia de la misma. Cuando se estudia una muestra de pacientes, los datos obtenidos permiten clasificar a los sujetos en cuatro grupos según una tabla 2x2 como la que se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 2. Representación de una tabla de contingencia de 2x2

Resultado de la prueba	Verdadero diagnóstico	
	Enfermo	Sano
Positivo	Verdaderos Positivos (VP)	Falsos Positivos (FP)
Negativo	Falsos Negativos (FN)	Verdaderos Negativos (VN)

Fuente: Cuevas ³⁴

En ella, se enfrenta el resultado de la prueba diagnóstica (en filas) con el estado real de los pacientes (en columnas) o, en su defecto, el resultado de la prueba de referencia o “Gold standar” que vayamos a utilizar. El resultado de la prueba puede ser correcto (verdadero positivo y verdadero negativo) o incorrecto (falso positivo y falso negativo). El análisis de su validez puede obtenerse calculando los valores de sensibilidad y especificidad.³⁴

2.8 Técnicas de diagnóstico de enteroparasitosis

El diagnóstico etiológico se realiza, principalmente, con técnicas parasitológicas mediante la identificación de huevos, quistes, ooquistes o larvas de parásitos en muestras fecales; por lo tanto, es importante que el personal de laboratorio clínico maneje de forma habitual varios métodos coproparasitológicos alternativos que apoyen el diagnóstico.³³

Las técnicas de diagnóstico parasitológico pueden dividirse en cualitativas y cuantitativas. Cualitativas tienen por objeto diagnosticar parasitosis causadas por protozoarios o helmintos. Cuantitativas aquellas que tienen por objeto determinar el número de huevos por gramo de heces.³³

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del lugar de estudio

El Hospital Regional de Ayacucho se encuentra ubicado en el distrito de Ayacucho, provincia Huamanga, departamento de Ayacucho en un amplio valle de la Sierra Sur Central Andina del Perú a 2 761 m.s.n.m.

El Laboratorio de Patología Clínica cuenta con varios servicios al paciente uno de ellos es el de Parasitología, que se encarga de realizar exámenes parasitológicos.

3.2 Diseño metodológico para la recolección de datos

3.2.1 Etapa pre-analítica

3.2.1.1 Obtención de las muestras

Se aplicaron fichas de encuesta para registrar datos de pacientes con infecciones diarreicas agudas. Luego se prosiguieron a seleccionar las 100 muestras de heces diarreicas el tiempo necesario. El número de muestras no es relevante, pues lo que interesa es la obtención de ooquistes de coccidios.³⁵

3.2.1.2 Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión

- Muestras de heces acuosas congruentes con infecciones diarreicas agudas.
- Muestras de niños y adultos de ambos sexos entre 3 a 68 años de edad.

Exclusión

- Heces duras formadas
- Heces contaminadas con tierra, sangre menstrual, papel higiénico u otros.
- Heces conservadas por más de 24 horas a temperatura ambiente.
- Pacientes medicados con antiparasitarios, antibióticos, laxantes, etc.

3.2.2 Etapa analítica

3.2.2.1 Examen parasitológico de las heces

Determina si una muestra de materia fecal contiene parásitos, huevos, quistes, esporozoítos, etc. que estén asociados con infecciones intestinales.³⁶ Para el diagnóstico de estas parasitosis se aplicaron tres técnicas de concentración (Willis, Tello y Baerman) luego se realizaron frotices en láminas portaobjetos para su respectiva coloración con la técnica de Ziehl Neelsen modificada.

3.2.2.2 Técnicas de concentración

Técnica de Willis (Sol. Saturada de NaCl al 38%)

Fundamento

Este método consiste en diluir la materia fecal con solución saturada de cloruro de sodio (NaCl) la cual se caracteriza por hacer flotar objetos menos densos como los huevos, quistes y ooquistes de los parásitos. Los elementos parasitarios son recuperados de la capa superficial y los residuos se mantienen en el fondo del tubo. La solución se obtiene mezclando 38 g de NaCl en 100 ml de agua caliente o calentar la mezcla a fin de homogenizarla.¹

Procedimiento:

- Se homogenizó y diluyó con la ayuda de una baqueta 1 o 2 g de heces en un tubo de ensayo que contenía 4 ml de solución saturada de cloruro de sodio.
- Se filtró el homogeneizado a través de la gasa, llenando el tubo hasta la cuarta parte de su contenido.

- Se adicionó la misma solución hasta formar un menisco sobre el borde del tubo.
- Se colocó un cubreobjetos sobre el tubo, de manera que el líquido haga contacto con el cubreobjetos.
- Se dejó en reposo durante 15 a 20 minutos para que los huevos y quistes de parásitos floten y se adhieran por viscosidad a la laminilla.
- Se depositó una gota de lugol en una lámina portaobjetos y sobre ella se colocó el cubreobjetos.
- Se observó al microscopio con el objetivo de 40X.³⁷

Técnica de sedimentación espontánea de Tello

Fundamento

Tello² adaptó esta técnica que detecta con alta sensibilidad diversos enteroparásitos desde amebas hasta huevos y larvas. Los parásitos se concentran por acción de la gravedad, suspendiendo las heces en agua corriente, agua destilada o solución salina y dejando que sedimenten naturalmente. Estos métodos son principalmente útiles para la concentración de quistes, ooquistes y huevos.

Procedimiento:

- Se homogeneizó 1 – 2 g de heces con solución salina fisiológica en un tubo de ensayo limpio.
- Se colocó una gasa, hundiéndola en la abertura del tubo y sujetándola con una liga alrededor de ella.
- Se filtró el homogeneizado a través de la gasa, llenando el tubo hasta la cuarta parte de su contenido.
- Se agregó solución salina fisiológica hasta 1 cm por debajo del borde del tubo. Luego se dejó en reposo de 30 a 45 minutos.

- Se aspiró la parte media y fondo de sedimento con una pipeta Pasteur y depositó uno a dos gotas en una lámina portaobjeto.
- Se agregó uno a dos gotas de solución lugol a una de las preparaciones cubriendo ambas preparaciones con las laminillas del portaobjeto.
- Se observó al microscopio con el objetivo de 40X.³⁷

Técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras

Fundamento

Se basa en la gravedad que presentan todas las formas parasitarias para sedimentar espontáneamente en un medio menos denso y adecuado como la solución salina fisiológica. En este método es posible la detección de quistes, ooquistes, trofozoítos de protozoarios, huevos y larvas de helmintos.³

Procedimiento:

- Se colocó 5 – 10 g de heces en un vaso de precipitado y homogeneizó con 10 ml de solución salina fisiológica.
- Se colocó la coladera con la gasa doblada (dos a tres capas) dentro de la copa.
- Se filtró el homogeneizado a través de la gasa, llenando la copa hasta la cuarta parte de su contenido.
- Se vertió solución salina fisiológica a 37 °C en cantidad suficiente por el borde de la copa.
- Se dejó a temperatura ambiente de 30 a 50 minutos.
- Se aspiró la parte media y fondo de sedimento con una pipeta Pasteur y depositó uno a dos gotas en una lámina portaobjeto.
- Se agregó uno a dos gotas de solución lugol a una de las preparaciones cubriendo ambas preparaciones con las laminillas del portaobjeto.
- Se observó al microscopio con el objetivo de 40X.³⁷

3.2.2.3 Técnica de diagnóstico de coccidios intestinales

Técnica de coloración de Ziehl Neelsen modificada

Fundamento

Para el diagnóstico de coccidiosis se realiza la coloración de Kinyoun a las diferentes muestras ya fijadas. En la observación microscópica de la muestra teñida los ooquistes se ven de color rojo vivo destacando sobre el fondo azul. El diagnóstico de la especie se hace en base al tamaño del ooquiste (en humanos).³⁷

Procedimiento:

- Se realizó un frotis del sedimento concentrado de heces en láminas portaobjetos.
- Se dejó secar a temperatura ambiente.
- Se fijó con metanol durante 5 minutos.
- Se agregó NaOH 1 N durante un minuto, se eliminó el exceso y lavó con agua corriente.
- Se cubrió la lámina con carbol fucsina durante 5 minutos
- Se lavó suavemente la lámina portaobjeto con agua corriente.
- Se decoloró con alcohol ácido por 1 minuto.
- Se lavó suavemente el portaobjeto con agua corriente.
- Se coloreó con colorante de contraste azul de metileno por cinco minutos.
- Se lavó la lámina suavemente con agua corriente y se dejó secar a temperatura ambiente.
- Se realizó las observaciones al microscopio, utilizando el objetivo de inmersión 100X.
- Los ooquistes de *Cryptosporidium* y *Cyclospora* se observan de color rojo, por ser ácido alcohol resistente.

- La diferencia entre ooquistes de *Cryptosporidium* y *Cyclospora* se hizo por medición de los mismos.³⁷

3.2.3 Etapa post-analítica

Determinación de sensibilidad y especificidad

Se consideró como Gold standar la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras siguiendo los criterios descritos por Córdova *et al.*⁸

Sensibilidad

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.³⁴

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN} \times 100 \%$$

VP: verdadero positivo

FN: falso negativo

Especificidad

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo. En otras palabras, se puede definir la especificidad como la capacidad para detectar a los sanos.³⁴

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP} \times 100 \%$$

VP: verdadero positivo

FP: falso positivo

Valor predictivo positivo

Es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en el test. El valor predictivo positivo puede estimarse, por tanto, a partir de la proporción de pacientes con un resultado positivo en la prueba que finalmente resultaron estar enfermos.³⁴

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100 \%$$

VP: verdadero positivo

FP: falso positivo

Valor predictivo negativo

Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano. Se estima dividiendo el número de verdaderos negativos entre el total de pacientes con un resultado negativo en la prueba.³⁴

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN} \times 100 \%$$

VPN: valor predictivo negativo

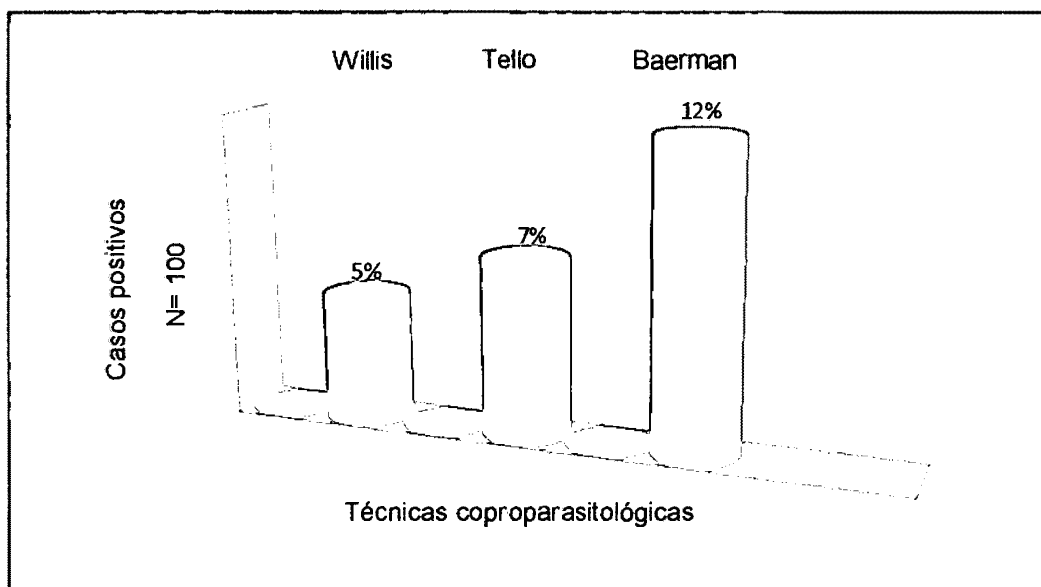
VN: verdadero negativo

FN: falso negativo

3.3 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se empleó la prueba estadística no paramétrica de Kruskal Wallis. Se empleó el programa SPSS, versión 18. Para cada método se determinó la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN).

IV. RESULTADOS



$\chi^2 = 7.679575$, g.l. 2, $p = 0.0214$ N= pacientes t0tales

Figura 5. Porcentaje de casos positivos de coccidios intestinales según técnicas coproparasitológicas. Ayacucho, 2012.

Tabla 3. Comparación de técnicas de flotación de Willis y de Baerman según número de pacientes positivos con coccidiosis intestinales. Ayacucho, 2012.

Técnica de flotación de Willis	Técnica de Baerman				Total	
	Positivo		Negativo			
	N°	%	N°	%	N°	%
Positivo	03	25	02	2	05	05
Negativo	09	75	86	98	95	95
Total	12	100	88	100	100	100

Sensibilidad: 25 %

Especificidad: 98 %

VPP: 60%

VPN: 91 %

Tabla 4. Comparación de técnicas de sedimentación espontánea de Tello y de Baerman según número de pacientes positivos con coccidiosis intestinales. Ayacucho, 2012.

Técnica de sedimentación espontánea de Tello	Técnica de Baerman				Total	
	Positivo		Negativo			
	N°	%	N°	%	N°	%
Positivo	04	33	03	3	07	7
Negativo	08	67	85	97	93	93
Total	12	100	88	100	100	100

Sensibilidad: 33%

Especificidad: 97 %

VPP: 57%

VPN: 91 %

V. DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestra los resultados del análisis parasitológico utilizando las tres técnicas coproparasitológicas, de las cuales 5 % resultaron positivas con la técnica de Willis, 7 % positivas con la técnica de Tello y 12 % positivas con la técnica de Baerman de un total de 100 pacientes. Según el análisis estadístico Kruskal Wallis el nivel de significancia entre la técnica de Baerman y la técnica de Tello son homogéneas, el p-valor de estas dos técnicas es 0,177294 no hay diferencia significativa. La técnica de Baerman y la técnica de Willis no son homogéneas, el p-valor de estas dos técnicas es 0,016704 hay diferencia significativa. La técnica de Tello y la técnica de Willis son homogéneas, el p-valor de estas dos técnicas es 1 000000 no hay diferencia significativa entre estas dos técnicas. Pajuelo *et al.*³⁸ en su trabajo de investigación titulado Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parásitos intestinales, demostraron que la técnica de sedimentación espontánea de Tello tiene un mayor rendimiento detectando 4 % de muestras positivas de coccidios, el examen directo detectó 2 % y la técnica de flotación con sulfato de zinc 2 % de un total de 108 muestras. De acuerdo a los resultados expuestos, se puede afirmar que la técnica de Baerman tiene mayor sensibilidad y especificidad diagnóstica en comparación con las otras técnicas de sedimentación, debido a

que la técnica utiliza mayor cantidad de muestra dando mayor probabilidad de diagnosticar pacientes con coccidiosis intestinales.

En la Tabla 3 se muestra la proporción de individuos clasificados como positivos y negativos considerando a la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras como el Gold standar y la técnica de flotación por Willis la prueba en estudio. De las cuales el 25 % fueron positivas por ambas técnicas, 75 % positivas para la técnica de Baerman y negativas para la técnica de Willis, 2 % negativas para la técnica de Baerman y positivas para la técnica de Willis y 98% fueron negativas por ambas técnicas. La técnica de Willis, mostró una sensibilidad de 25 %, y una especificidad de 98 % de un total de 100 pacientes. Según Córdova *et al.*⁸ en el trabajo titulado Comparación de tres técnicas de concentración de heces para recuperar ooquistes de *Cryptosporidium* examinadas por las técnicas parasitológicas de Telemann modificado, Tris Tween 80 y agua éter, mostraron una sensibilidad y especificidad del 100 %. De acuerdo a los resultados obtenidos las técnicas de concentración por flotación alcanzaron un bajo rendimiento con respecto a las técnicas de concentración por sedimentación.

En la Tabla 4 se muestra la proporción de individuos clasificados como positivos y negativos considerando la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras como el Gold standar y la técnica de sedimentación espontánea de Tello como la prueba en estudio. De las cuales, el 33 % fueron positivas por ambas técnicas, 67 % resultaron positivas para la técnica de Baerman y negativas para la técnica de Tello, 3 % negativas para la técnica de Baerman y positivas para la técnica de Tello y el 97 % fueron negativas por ambas técnicas de un total de 100 pacientes. En el estudio de Chávez³⁹ titulado Diagnóstico de protozoarios intestinales frecuentes en niños. La Plata, Argentina reportó un 50%

de rendimiento con la técnica de Tello, 23 % con el método directo y 25 % con la técnica de flotación. De acuerdo a estos dos estudios, la técnica de Baerman es mucho más efectiva en el diagnóstico de coccidiosis intestinales.

VI.CONCLUSIONES

- La técnica de concentración por sedimentación de Baerman modificado en copa por Lumbreras fue más determinante en el diagnóstico de coccidiosis intestinales.
- La técnica de concentración por flotación de Willis mostró una sensibilidad del 25 %, una especificidad del 98 %, valor predictivo positivo de 60 %, y valor predictivo negativo de 91 %, tomando como Gold standar la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras.
- La técnica de sedimentación espontánea de Tello mostró una sensibilidad del 33 %, una especificidad del 97 %, valor predictivo positivo de 91 % y valor predictivo negativo de 91 %, tomando como Gold standar la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras.

VII. RECOMENDACIONES

- Trabajar con heces diarreicas de pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV/SIDA).
- Aplicar el método de esporulación de ooquistes con Bicromato de Potasio (K₂Cr₂O₇) al 2,5 % en muestras fecales negativas.
- Realizar estudios en niños asintomáticos mediante esporulación de ooquistes de coccidios en muestras fecales.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Markell E. Parasitología médica, 6ta ed. España: Edit. Interamericana; 1990.
2. Tello R, Canales M. Técnicas de diagnóstico de enfermedades causadas por enteroparásitos. Diagnóstico 2000; 39: 197-8. Disponible en: <http://www.fihu-diagnostico.org.pe/revista/numeros/2000/julago00/197-198.html>
3. Lumbreras H. Aplicación de la técnica de Baerman modificada en copa para el diagnóstico y control terapéutico; 1990.
4. Leal F. Agentes etiológicos de diarrea aguda en la región las Américas: Federación Colombiana de Especialistas en Laboratorio Clínico (FECODEL); Pp. 2005: 5-55.
5. EsSalud -GCPS-OPIS, Boletín Epidemiológico. Bol. EPI N ° 02 - 2012.
6. DIRESA. Comportamiento de las Enfermedades Diarreicas Agudas en las Redes Asistenciales; 2012.
7. Murguía J. Parasitología clínica. 6ta ed. México D.F: Edit. Interamericana S.A de C.V; 2002.
8. Córdova M, Del coco V, Basualdo J. Comparación de tres técnicas de concentración de heces para recuperar ooquistes de *Cryptosporidium*. Revista online. 2008; 42 (3): 333-7.
9. Girard R. Comparación epidemiológica entre apicomplexa intestinales en población hospitalaria en Tegucigalpa, Honduras. Rev Med Hond 2000; 70:164-172.
10. Sabilón L. Observaciones clínicas en niños con gastroenteritis y criptosporidiosis en Honduras. Rev. Medpostunah 1998-2000. Vol. 6 No. 3.
11. Capó de Paz V, Barrero M, Beltrán V, Luzardo C, Martínez A, Alujas Z. Diagnóstico de Coccidias y Micrósporas en muestras de heces diarreicas de pacientes cubanos seropositivos al VIH: primer reporte de Micrósporas en Cuba. [Rev. Cubana Med Trop] 2000; 55(1):14-8.
12. Devera R, Blanco Y, Amaya I, Requena I, Rodríguez Y. Coccidios intestinales en niños menores de 5 años con diarrea. Hospital Universitario "Ruiz y Páez" Ciudad Bolívar, Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2006; 30:140-144.
13. Requena I, Añez H, Lacourt E, Blanco Y, Castillo H, Rivera M, Devera R. Elevada prevalencia de Coccidios Intestinales en Pacientes infectados con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana en Ciudad Bolívar, Venezuela. Rev Biomed 2007; 18:73-75.
14. Huiza A, Espinoza I, Rojas G, Sevilla C, Alva P. Detección de coccidios en niños asintomáticos mediante esporulación de muestras fecales. Asentamiento Humano las Casuarinas de Villa [Tesis pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. An Fac Med 2004; 65(4).
15. Ríos O, Arbildo P, Reátegui C, Rengifo A, Zapata E. *Cryptosporidium*, *Cyclospora* y *Giardia lamblia* en niños menores de 10 años de edad de los caseríos zúngaro cocha y puerto almendras. Loreto, Perú. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de la Amazonia Peruana; 2002.

16. García J. Prevalencia de *Cryptosporidium sp.* en niños menores de 10 años en la comunidad campesina de Totorá. Distrito de Jesús Nazareno [Tesis pregrado]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2005.
17. Alcca E. Prevalencia de *Blastocystis hominis* y *Cryptosporidium sp.* en el nivel primario de la Institución Educativa Melitón Carbajal. Distrito de Ayacucho [Tesis pregrado]. Ayacucho: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2006-2007.
18. OMS. Enfermedades diarreicas en países de bajos ingresos. Edit. Médica; 2009.
19. OMS. Manejo y prevención de la diarrea. Pautas prácticas. Edit. Médica; 2000.
20. Cárdenas V. 2008. Manual de parasitología, UNSCH. Ayacucho, Perú.
21. Ortega Y, Gilman R, Sterling C. Apicomplexa: Eimeriidae, Sarcocystidae y Cryptosporidae de los seres humanos. *J Parasitol* 2004; 80:625-629.
22. Clark D. Nuevos conocimientos sobre criptosporidiosis humana. *Opiniones de Microbiología Clínica*. 2003;12:554-63.
23. Saredi N. 2002. Manual práctico de parasitología médica. Laboratorios Andrómaco Buenos Aires, 112 pp.
24. Fayer R. Biología general de *Cryptosporidium*: *Cryptosporidiosis* en hombres y animales, Fayer R. & Xiao L. eds. CRC Press and IWA Publishing, 1075 Boca Raton, FL, USA, 1-42. 2008.
25. Gallego J. Manual de parasitología. 1ra ed. España: Edit. Universitat de Barcelona; 1998.
26. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas, 3ra ed. Bogotá, Colombia: Edit. Corporación para investigaciones biológicas; 2003.
27. Atías A. Parasitología clínica. 3ra ed. Santiago de Chile: Edit. Publicaciones Técnicas Mediterráneo; 1991.
28. Colomina J, Villar J. Características morfológicas, clínicas y terapéuticas de *Cyclospora cayetanensis*. *Bol Chil Parasitol* 2002; 52:26-32.
29. Levine N. Introducción, historia y taxonomía en coccidia: *Eimeria*, *Isospora*, *Toxoplasma* y afines. University Park Press 2000:1-22.
30. Goodgame RW. Understanding intestinal spore-forming protozoa: *Cryptosporidia*, *Microsporidia*, *Isospora* and *Cyclospora*. *Ann Inter Med* 2003; 124:429-41.
31. OMS. Enfermedades diarreicas en países de bajos ingresos. Edit. Médica; 2009.
32. Chacín L, Guanipa N, Cano G, Raleigh X, Quijada L. Epidemiología de *Cyclospora cayetanensis*: Revisión centrándose en las áreas endémicas. *Acta Tropica*; 2008.
33. Zinsser W. Microbiología. 20ava ed. Madrid, España: Edit. Médica Panamericana S.A.; 1994.
34. Cuevas C. Validez y fiabilidad de las medidas de exposición y medición. Universidad Nacional Autónoma de México; 2010.

35. Piedrasanta E. Determinación de la influencia de dos detergentes en la recuperación de ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* de vegetales y frutas contaminadas experimentalmente en el laboratorio [Tesis pregrado]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2003.
36. Markell E. Parasitología médica, 6ta ed. España: Edit. Interamericana; 1990.
37. Beltrán M, De Estrada F, Tello R, Náquira C. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de los parásitos intestinales del hombre. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2003.
38. Pajuelo G, Luján D, Paredes B, Tello R. Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parásitos intestinales. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú. Rev Biomed 2006; 17:96-101.
39. Chávez E. Diagnóstico de protozoarios intestinales frecuentes en niños. La Plata, Argentina. Rev Panam Infectol 2003;10(1):24-29
40. Goodgame R. Causas emergentes de la diarrea del viajero: Cryptosporidium, Cyclospora, Isospora y microsporidios. Informes de Enfermedades Infecciosas actuales,5:66–73; 2003.
41. Ortega Y. Hallazgos patológicos y clínicos en pacientes con cyclosporiasis y una descripción de las etapas del ciclo de vida del parásito intracelular. J Infect; 2001:1584-1589.
42. Levine N. Introducción, historia y taxonomía en coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma y afines. University Park Press 2000:1-22.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 5. Comparación de tres técnicas de concentración de heces según Kruskal Wallis.

Técnicas	Diferencia	p-valor sig	Límite inferior	Límite superior
Baerman - Tello	8.12500	0.177294	-2.308684	18.55868
Baerman - Willis	12.21875	0.016704*	1.785066	22.65243
Tello-Willis	4.09375	1.000000	-6.339934	14.52743

*La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Anexo2

Tabla 6. Concentración de ooquistes de coccidios intestinales según técnicas

Nº Lámina	Técnica de flotación de Willis	Técnica de sedimentación espontánea de Tello	Técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras
12	-	+	++
17	+	++	++
20	+	-	-
28	-	-	+
34	-	+	++
44	-	+	-
45	-	-	+
52	+	++	++
64	+	-	+
71	+	+	-
72	-	-	+
76	-	-	+
82	-	-	+
88	-	-	+
92	-	-	+
95	-	+	-

+ (<1 ooquiste); ++ (≥1, <6 ooquistes); +++ (≥6, <10 ooquistes); ++++ (≥10 ooquistes).

Anexo 3

Tabla 7. Frecuencia de infección por coccidios intestinales según edades. Ayacucho, 2012.

Grupo etáreo	Técnica de flotación de Willis		Técnica de sedimentación espontánea de Tello		Técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras	
	n/N	Positivos %	n/N	Positivos %	n/N	Positivos %
3-11	3/44	7	3/44	7	6/44	14
12-20	1/22	5	0/22	0	2/22	9
21-29	0/10	0	2/10	20	0/10	0
30-38	1/12	8	2/12	17	1/12	8
39-68	0/12	0	0/12	0	3/12	25
Total	5/100	20	7/100	43	12/100	56

Leyenda:

n= pacientes positivos

N= pacientes totales por grupo

Anexo4

Tabla 8. Frecuencia de infección por coccidios intestinales según sexo. Ayacucho, 2012.

Sexo	Técnica de flotación de Willis		Técnica de sedimentación espontánea de Tello		Técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras	
Masculino	3/61	4.92%	4/61	6.56%	7/61	11.48%
Femenino	2/39	5.13%	3/39	7.69%	5/39	12.82%
Total	5/100		7/100		12/100	

Anexo 5

Tabla 9. Frecuencia de coccidiosis intestinales según especies. Ayacucho, 2012.

Especies de Coccidios	Técnica de flotación de Willis		Técnica de sedimentación espontánea de Tello		Técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras	
	n=100	%	n=100	%	n=100	%
<i>Isospora sp.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Cryptosporidium sp.</i>	05	5	06	6	10	10
<i>Cyclospora sp.</i>	0	0	01	1	02	2
* Láminas negativas	95	95	93	93	88	88
Total	100	100	100	100	100	100

*Láminas sin ooquistes de coccidios

Anexo6

Tabla 10. Ficha de encuesta

Validez de tres técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinales en pacientes con infección diarreica aguda. Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho, 2012.

Registro de datos personales

Datos personales

1. Nombres y apellidos:

2. Edad:

3. Sexo:

3.1- Femenino () 3.2- Masculino ().....

Anexo7

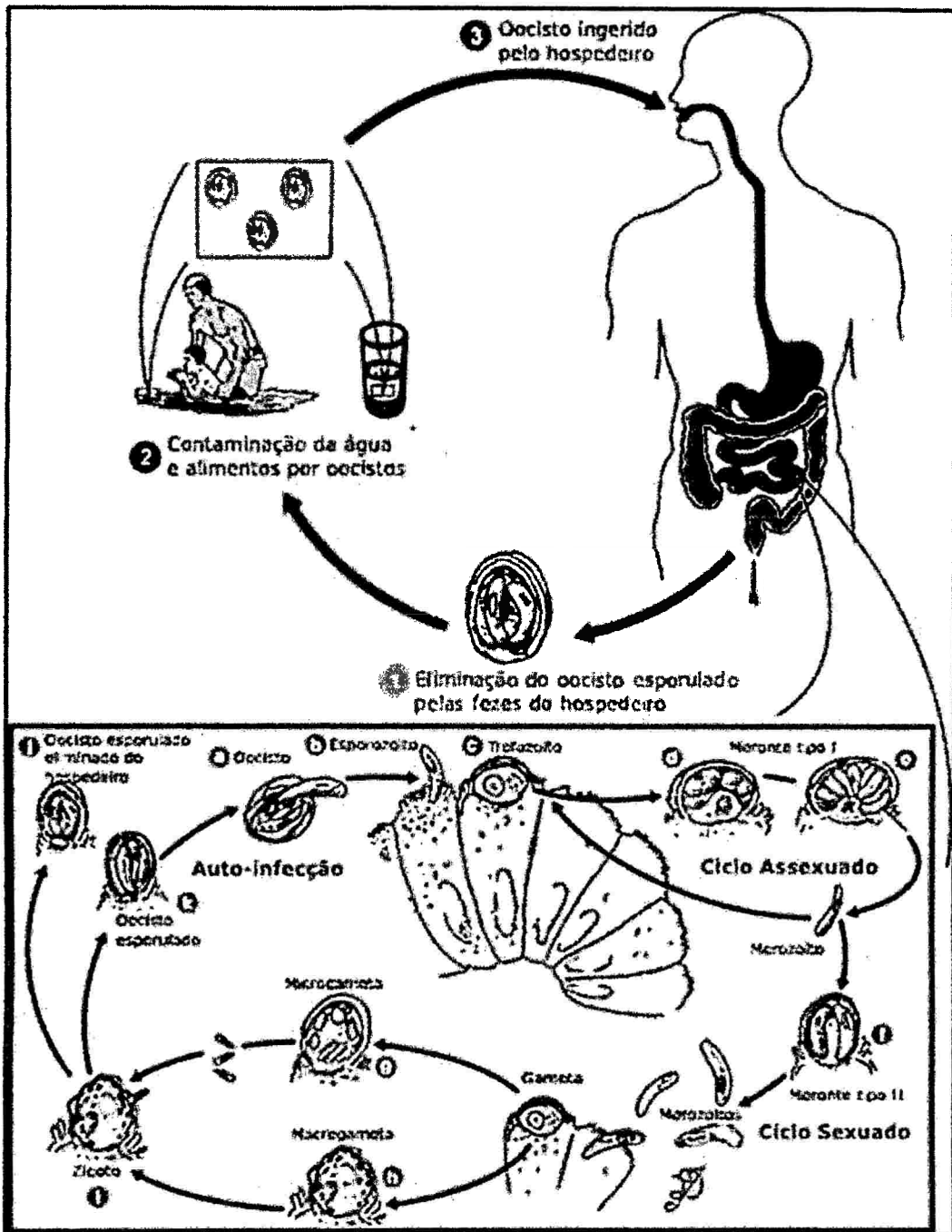


Figura 6. Ciclo biológico de *Cryptosporidium parvum*

Fuente: Goodgame ⁴⁰

Anexo8

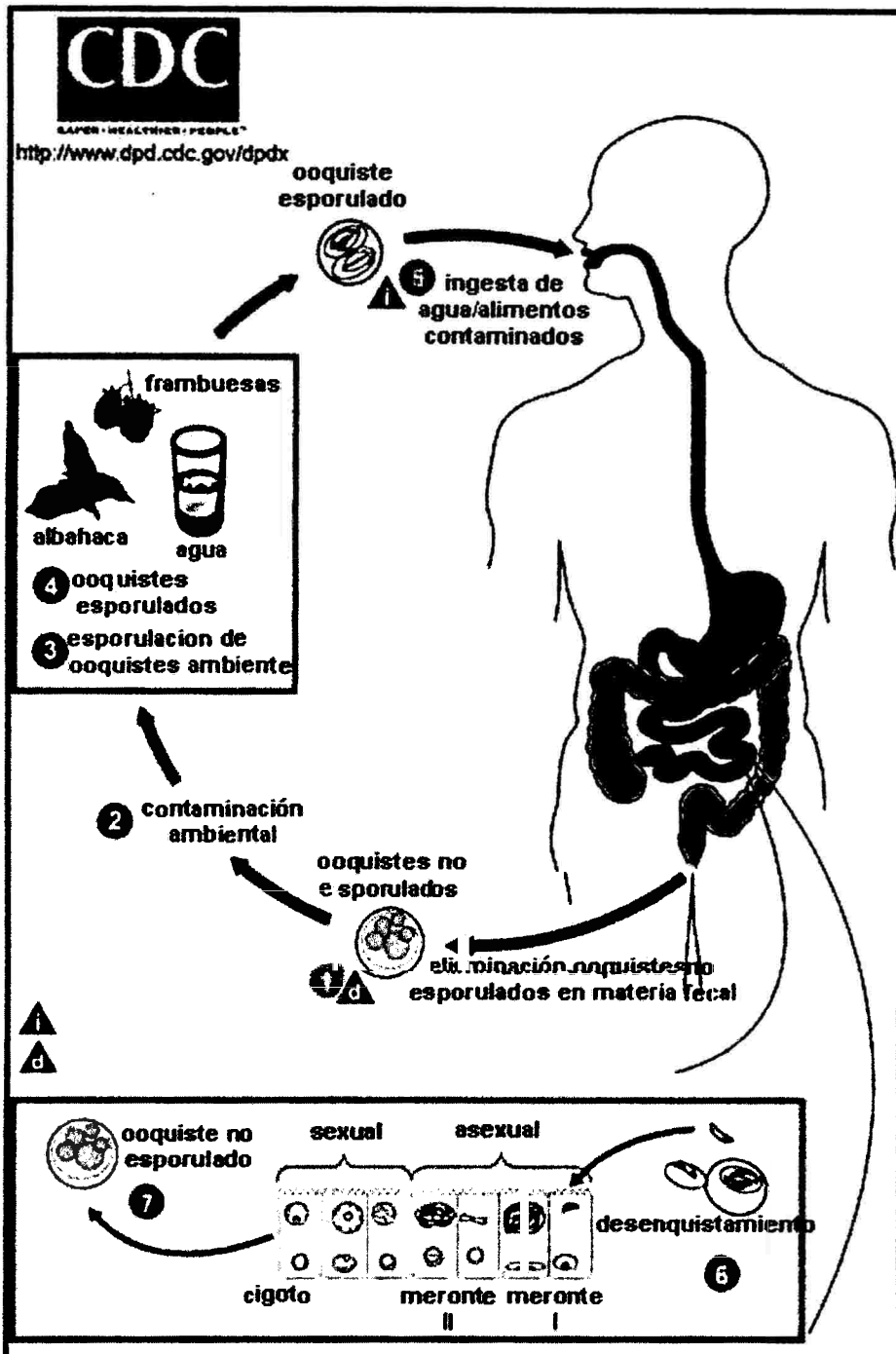


Figura 7. Ciclo biológico de *Cyclospora cayentanensis*

Fuente: Ortega ⁴¹

Anexo9

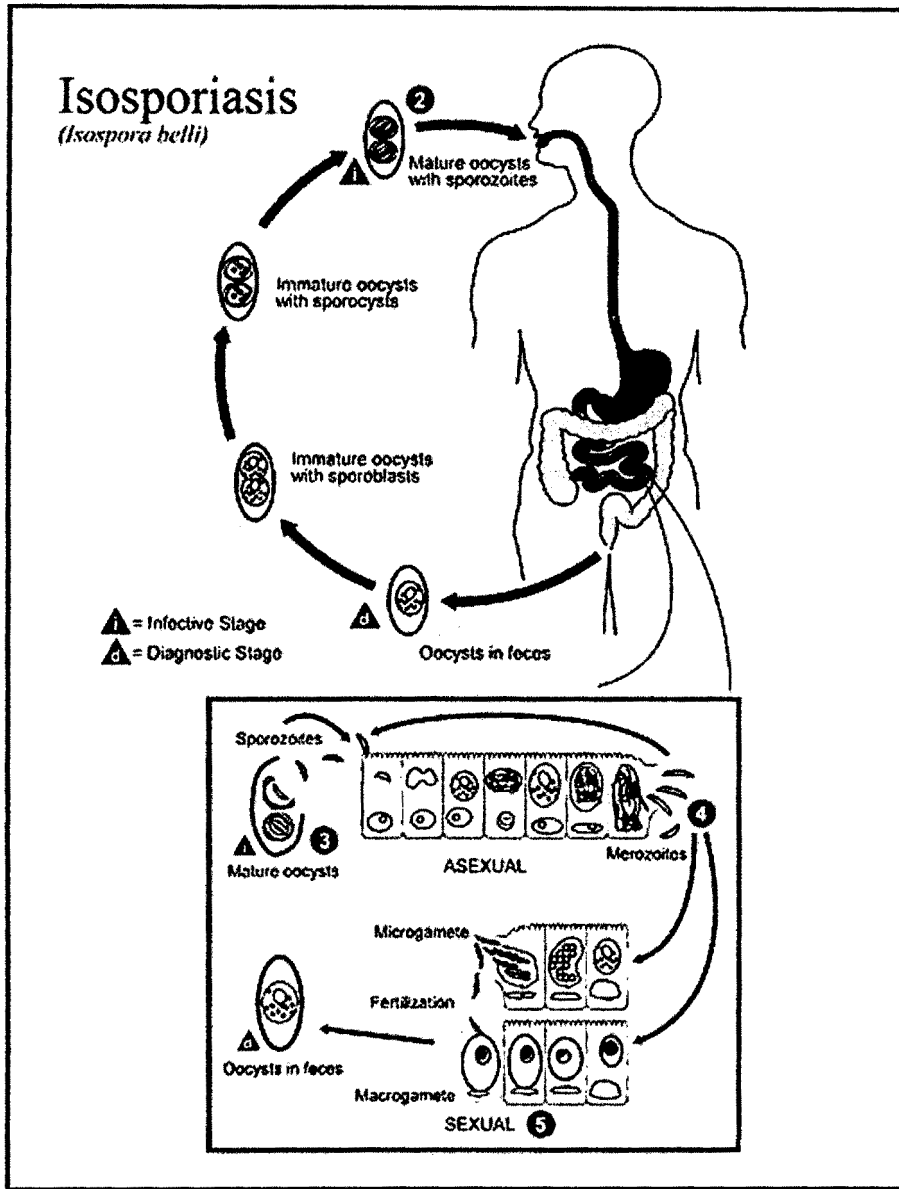


Figura 8. Ciclo biológico de *Isospora belli*

Fuente: Levine ⁴²

Anexo 12

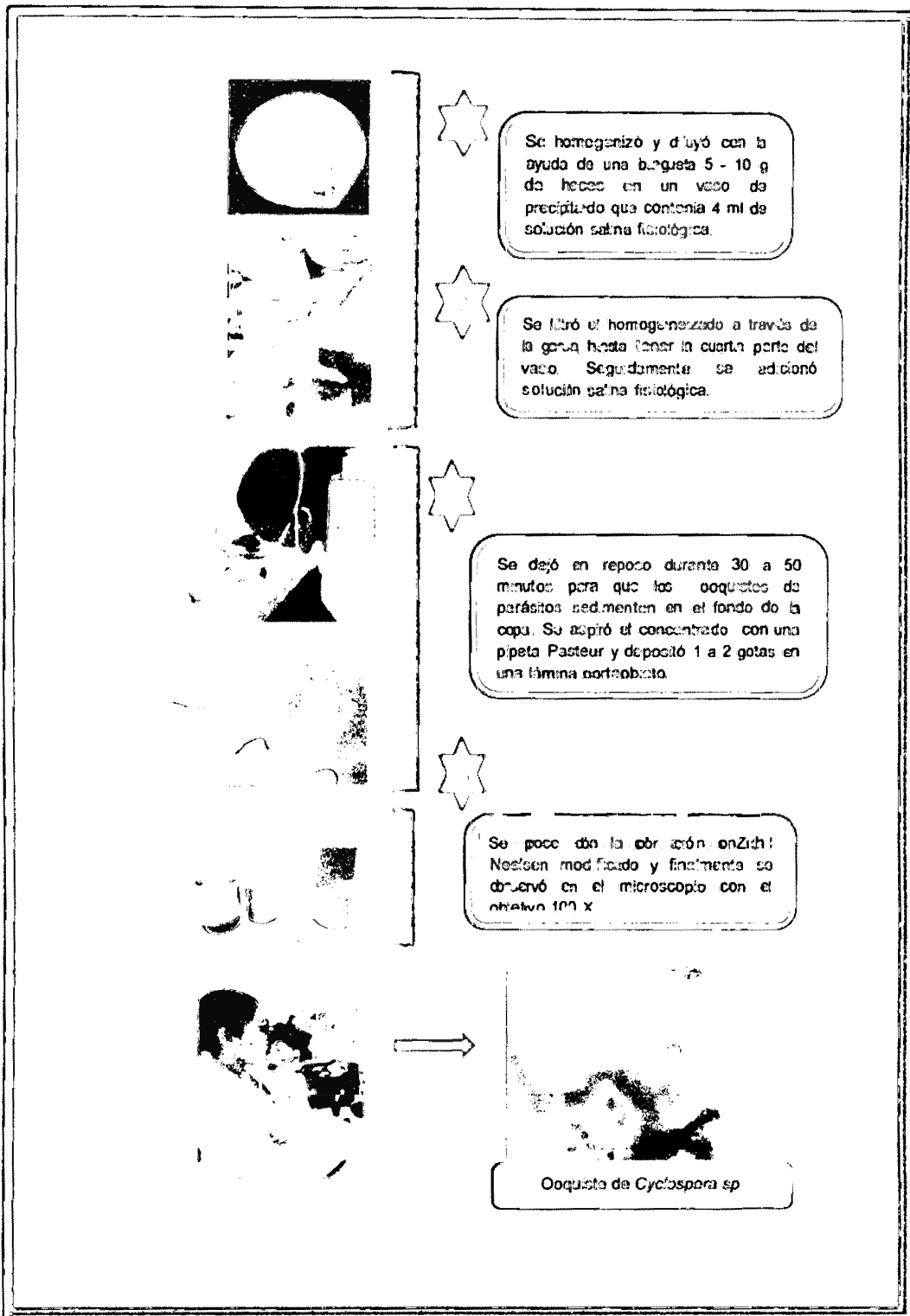


Figura 11. Flujoograma de la técnica de sedimentación de Baerman modificada en copa por Lumbreras

Anexo 13

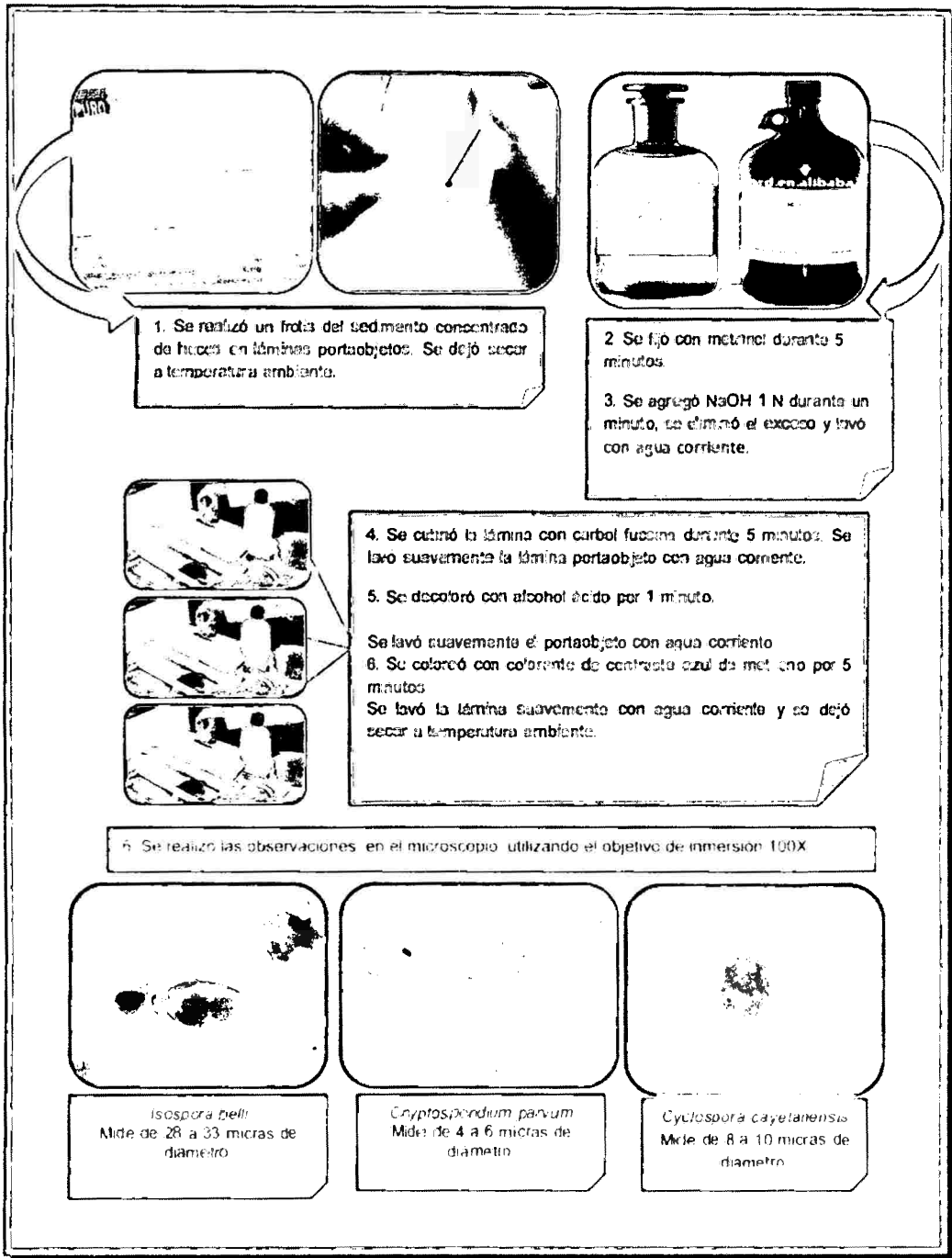


Figura 12. Flujoograma de la coloración Ziehl Neelsen modificada

TÍTULO	DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	DISEÑO METODOLÓGICO
Validez de tres técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal en pacientes con infección diarreica aguda. Laboratorio de patología clínica del Hospital Regional de Ayacucho, 2012.	¿Cuál de las tres técnicas de concentración tendrá mayor sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de coccidiosis intestinales en pacientes con infección diarreica aguda. Laboratorio de patología clínica del Hospital Regional de Ayacucho, 2012.	Objetivo General: Determinar que técnica de concentración (Willis, Tello y Baerman) resulta más efectiva para el diagnóstico de coccidiosis intestinal en pacientes con infección diarreica aguda que acuden al Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho. Objetivos Específicos: -Determinar la sensibilidad de cada una de las técnicas de diagnóstico de coccidiosis intestinal. -Determinar la especificidad de cada una de las técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal. -Determinar el valor predictivo positivo de cada una de las técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal. -Determinar el valor predictivo negativo de cada una de las técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinal.	<p>2.1 ANTECEDENTES</p> <p>2.1 La técnica de sedimentación espontánea de Tello tiene mayor sensibilidad y especificidad que la técnica de flotación de Willis y Baerman modificado en copa por Lumbreras en el diagnóstico de coccidiosis intestinales.</p> <p>2.2 Infecciones Diarreicas Agudas (IDAs)</p> <p>2.3 Phylum Apicomplexa</p> <p>2.3.1 <i>Cryptosporidium parvum</i></p> <p>2.3.2 <i>Cyclospora cayentanensis</i></p> <p>2.3.3 <i>Iscspcra belli</i></p> <p>2.4 Manifestaciones clínicas</p> <p>2.5 Epidemiología</p> <p>2.6 Transmisión</p> <p>2.7 Validez de una prueba diagnóstica</p> <p>2.8 Técnicas de diagnóstico de enteroparasitosis</p>	<p>Hipótesis</p> <p>La técnica de sedimentación espontánea de Tello tiene mayor sensibilidad y especificidad que la técnica de flotación de Willis y Baerman modificado en copa por Lumbreras en el diagnóstico de coccidiosis intestinales.</p>	<p>VARIABLES E INDICADORES</p> <p>Variable Independiente: Técnicas de concentración para el diagnóstico de coccidiosis intestinales.</p> <p>Indicadores -Técnica de flotación de Willis -Técnica de sedimentación espontánea de Tello -Técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras -Técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras</p> <p>Variable Dependiente: Validez de prueba diagnóstica</p> <p>Indicadores -Sensibilidad -Especificidad -Valor predictivo positivo -Valor predictivo negativo</p>	<p>3. MATERIALES Y MÉTODOS</p> <p>3.1 Ubicación del lugar de estudio</p> <p>3.2 Diseño metodológico para la recolección de datos</p> <p>3.2.1 Etapa pre-analítica</p> <p>3.2.1.1 Obtención de las muestras</p> <p>3.2.1.2 Criterios de inclusión y exclusión</p> <p>3.2.2 Etapa analítica</p> <p>3.2.2.1 Examen parasitológico de las heces</p> <p>3.2.2.2 Técnicas de concentración</p> <p>Técnica de Willis (Sol. Saturada de NaCl al 38%).</p> <p>Técnica de sedimentación espontánea de Tello</p> <p>Técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras</p> <p>3.2.2.3 Técnica de diagnóstico de coccidios intestinales</p> <p>Técnica de coloración de Ziehl Neelsen modificada</p> <p>3.2.3 Etapa post-analítica</p> <p>Determinación de sensibilidad y especificidad</p> <p>Sensibilidad</p> <p>Especificidad</p> <p>Valor predictivo positivo</p> <p>Valor predictivo negativo</p> <p>Población Pacientes con infecciones diarreicas agudas que acuden al Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho.</p> <p>Tamaño de muestra 100 muestras fecales (acuosas) de pacientes que presenten infecciones diarreicas agudas.</p> <p>Tipo de Investigación: Descriptivo</p> <p>3.3 Análisis estadístico Para el análisis estadístico se empleará la prueba estadística no paramétrica de kruskal Wallis. Se empleará el programa SPSS, versión 18. Para cada método se determinará la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN).</p>

Validez de tres técnicas de concentración en el diagnóstico de coccidiosis intestinales en pacientes con infección diarreica aguda. Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Regional de Ayacucho, 2012.

Cadis Mery Chuchón Mendieta¹, Victor Luis Cárdenas López¹

¹Biología: UNSCH

RESUMEN

Los coccidios intestinales son uno de los causantes de las infecciones diarreicas agudas. Para el diagnóstico de estas parasitosis el personal de laboratorio no tiene en conocimiento la técnica de mayor sensibilidad y especificidad para concentrar ooquistes, por lo cual el presente estudio tuvo como objetivo determinar que técnica de concentración (Willis, Tello y Baerman) es más efectiva para la concentración de ooquistes en muestras de heces diarreicas. El presente estudio se llevó a cabo en el Hospital Regional de Ayacucho en el Área de Parasitología del Laboratorio de Patología Clínica. El tipo de investigación fue descriptiva. Se recolectaron 100 muestras fecales de pacientes con infecciones diarreicas aguda las cuales fueron procesadas por las técnicas de Willis¹, sedimentación espontánea de Tello² y Baerman modificada en copa por Lumbreras³. La identificación de ooquistes se realizó mediante coloración de Ziehl Neelsen modificada. El número de ooquistes concentrados por cada técnica fue cuantificado en 20 campos a 100X. Según los resultados la técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras mostró un mayor rendimiento 12% en comparación con la técnica de sedimentación espontánea de Tello 7% y la técnica de flotación de Willis 5%. La técnica de Baerman modificada en copa por Lumbreras confirmó ser un método de concentración de alto rendimiento, y se convierte en una alternativa aplicable sencilla, de bajo costo y eficiente en la detección de ooquistes de estos protozoarios.

Palabras clave: Coccidios, infecciones diarreicas agudas, técnicas de concentración.

SUMMARY

Intestinal *Coccidia* are one of the causes of acute diarrheal infections. For the diagnosis of these parasitic laboratory staff does not know the technique with greater sensitivity and specificity to concentrate oocysts, so the present study aimed to determine which concentration technique (Willis, Tello and Baerman) is more effective the concentration of oocysts in diarrheal stool samples. The present study was carried out in the Ayacucho Regional Hospital in the Area of Parasitology Clinical Pathology Laboratory. The research was descriptive. 100 fecal samples were collected from patients with acute diarrheal infections which were processed by techniques Willis¹, spontaneous sedimentation Tello² and modified Baerman Lumbreras drink³. Oocyst identification was performed using modified Ziehl Neelsen. The number of oocysts concentrated by each technique was quantified in 20 fields at 100X. According to the results the modified technique Baerman Lumbreras drink showed a 12% higher yield compared to spontaneous sedimentation technique Tello 7% and the flotation technique Willis 5%. Baerman technique modified confirmed Lumbreras drink be a method of high-yield concentration, and becomes applicable alternative simple, inexpensive and efficient in detecting these protozoan oocysts.

Key words: *Coccidia*, acute diarrheal infections, concentration techniques.

INTRODUCCIÓN

Las Infecciones Diarreicas Agudas (IDAS) continúan siendo uno de los principales problemas de salud pública en los países en desarrollo, constituyendo una de las causas principales de mortalidad y morbilidad en el mundo, específicamente en zonas con condiciones de pobreza. En la región de las Américas, las enfermedades diarreicas se encuentran entre las cinco primeras causas de muerte en todas las edades.⁴

En el Perú, hasta junio de 2012, se registraron cerca de 105 mil 321 episodios de infecciones diarreicas agudas (95% como IDAS acuosa) a nivel nacional, y cuya tasa de incidencia durante ese periodo fue de 34 episodios por cada 10 mil habitantes. Moquegua, Pasco y Amazonas son los departamentos que reportaron las tasas más altas encontrándose la mayoría de casos en niños de 0 a 11 años de edad.⁵

Tras el último reporte de la oficina de Epidemiología de la Dirección Regional de Salud (DIRESA), fueron atendidos 4 mil 230 emergencias por infecciones diarreicas agudas en niños menores de cinco años en los centros de salud y hospitales del departamento de Ayacucho. Según el reporte, la provincia de Huamanga registra mayor número de emergencias, con mil 769 casos, Huanta registra 658 emergencias, La Mar 471, Lucanas 362 y Cangallo 213 emergencias.⁶

En este estudio nos enfocamos en diarreas ocasionadas por parásitos, en especial protozoarios esporulados llamados coccidios intestinales que son uno de los causantes de las infecciones diarreicas agudas que afectan tanto a pacientes inmunocompetentes como en inmunosuprimidos.⁷ Para su diagnóstico se efectúa la búsqueda e identificación de ooquistes a través de técnicas coproparasitológicas de sedimentación y de técnicas de coloración como el Ziehl Neelsen modificado. El presente estudio se llevó a cabo en el Hospital Regional de Ayacucho en el Área de Parasitología del Laboratorio de Patología Clínica, donde se procesaron 100 muestras fecales con las técnicas de Willis¹ sedimentación espontánea de Tello² y Baerman modificada en copa por Lumbreras.³

MATERIAL Y MÉTODOS

Población

Pacientes con infecciones diarreicas agudas que acuden al Laboratorio de Patología clínica del Hospital Regional de Ayacucho.

Tamaño de muestra

100 muestras fecales (acuosas) de pacientes que presenten infecciones diarreicas agudas.

Diseño metodológico

Tipo de investigación.- Básico.

Alcance de investigación.- Descriptivo

Diseño de investigación.- Descriptivo-Longitudinal

Procedimiento experimental

Recolección de datos

Se aplicaron fichas de encuesta para registrar datos de pacientes con infecciones diarreicas agudas. Luego se prosiguieron a seleccionar las 100 muestras de heces diarreicas el tiempo necesario. El número de muestras no es relevante, pues lo que interesa es la obtención de ooquistes de coccidios.⁷

Métodos

Examen parasitológico de las heces

Determina si una muestra de materia fecal contiene parásitos, huevos, quistes, esporozoitos, etc. que estén asociados con infecciones intestinales.⁸ Para el diagnóstico de estas parasitosis se aplicaron 3 técnicas de concentración (Willis, Tello y Baerman) luego se realizaron frotices en láminas portaobjetos para su respectiva coloración con la técnica de Ziehl Neelsen modificada.

Determinación de sensibilidad y especificidad

Se consideró como Gold standar la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras siguiendo los criterios descriptos por Córdova *et al.*⁹

Sensibilidad

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.¹⁰

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN} \times 100 \%$$

Especificidad

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo. En otras palabras, se puede definir la especificidad como la capacidad para detectar a los sanos.¹⁰

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP} \times 100 \%$$

Valor predictivo positivo

Es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en el test. El valor predictivo positivo puede estimarse, por tanto, a partir de la proporción de pacientes con un resultado positivo en la prueba que finalmente resultaron estar enfermos.¹⁰

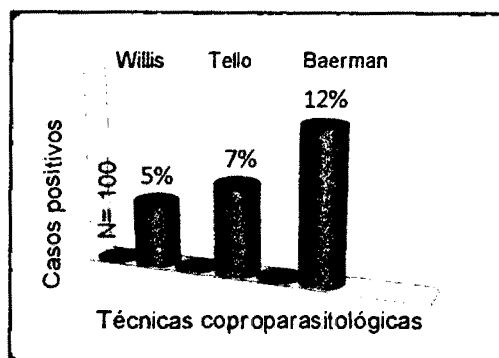
$$\text{VPP} = \frac{VP}{VP + FP} \times 100 \%$$

Valor predictivo negativo

Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano. Se estima dividiendo el número de verdaderos negativos entre el total de pacientes con un resultado negativo en la prueba.¹⁰

$$\text{VPN} = \frac{VN}{FN + VN} \times 100 \%$$

RESULTADOS



$X^2 = 7.679575$, g.l. 2, $p = 0.0214$ N= pacientes totales

Figura 1. Porcentaje de casos positivos de coccidios intestinales según técnicas copoparasitológicas Ayacucho, 2012.

Tabla 1. Comparación de técnicas de concentración de heces según número de pacientes positivos con coccidios intestinales. Ayacucho, 2012.

Técnica de flotación de Willis	Técnica de Baerman				Total	
	Positivo		Negativo		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
Positivo	03	25	02	2	05	5
Negativo	09	75	86	98	95	95
Total	12	100	88	100	100	100

Sensibilidad: 25 %

Especificidad: 98 %

VPP: 60 %

VPN: 91 %

Tabla 2. Comparación de técnicas de concentración de heces según número de pacientes positivos con coccidios intestinales Ayacucho, 2012.

Técnica de sedimentación espontánea de Tello	Técnica de Baerman				Total	
	Positivo		Negativo			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Positivo	04	33	03	3	07	7
Negativo	08	67	85	97	93	93
Total	12	100	88	100	100	100

Sensibilidad: 33%

Especificidad: 97%

VPP: 57%

VPN: 91%

DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra los resultados del análisis parasitológico utilizando las tres técnicas coproparasitológicas, de las cuales 5% resultaron positivas con la técnica de Willis, 7% positivas con la técnica de Tello y 12% positivas con la técnica de Baerman de un total de 100 pacientes. Según el análisis estadístico Kruskal Wallis el nivel de significancia entre la técnica de Baerman y la técnica de Tello son homogéneas, el p-valor de estas dos técnicas es 0,177294 no hay diferencia significativa. La técnica de Baerman y la técnica de Willis no son homogéneas, el p-valor de estas dos técnicas es 0,016704 hay diferencia significativa. La técnica de Tello y la técnica de Willis son homogéneas, el p-valor de estas dos técnicas es 1 000000 no hay diferencia significativa entre estas dos técnicas.

Pajuelo *et al.*¹¹ en su trabajo de investigación titulado Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parásitos intestinales, demostraron que la técnica de sedimentación espontánea de Tello tiene un mayor rendimiento detectando 4% de muestras positivas de coccidios, el examen directo detectó 2% y la técnica de flotación con sulfato de zinc 2% de un total de 108 muestras. De acuerdo a los resultados expuestos, se puede afirmar que la técnica de

Baerman tiene mayor sensibilidad y especificidad diagnóstica en comparación con las otras técnicas de sedimentación, debido a que la técnica utiliza mayor cantidad de muestra dando mayor probabilidad de diagnosticar pacientes con coccidiosis intestinales.

En la Tabla 1 se muestra la proporción de individuos clasificados como positivos y negativos considerando a la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras como el Gold standar y la técnica de flotación por Willis la prueba en estudio. De las cuales el 25% fueron positivas por ambas técnicas, 75% positivas para la técnica de Baerman y negativas para la técnica de Willis, 2% negativas para la técnica de Baerman y positivas para la técnica de Willis y 98% fueron negativas por ambas técnicas. La técnica de Willis, mostró una sensibilidad de 25%, y una especificidad de 98% de un total de 100 pacientes. Según Córdova *et al.*⁹ en el trabajo titulado Comparación de tres técnicas de concentración de heces para recuperar ooquistes de *Cryptosporidium* examinadas por las técnicas parasitológicas de Telemann modificado, Tris Tween 80 y agua éter, mostraron una sensibilidad y especificidad del 100%. De acuerdo a los resultados obtenidos las técnicas de concentración por flotación alcanzaron un bajo rendimiento con respecto a las técnicas de concentración por sedimentación.

En la Tabla 2 se muestra la proporción de individuos clasificados como positivos y negativos considerando la técnica de Baerman modificado en copa por Lumbreras como el Gold standar y la técnica de sedimentación espontánea de Tello como la prueba en estudio. De las cuales, el 33% fueron positivas por ambas técnicas, 67% resultaron positivas para la técnica de Baerman y negativas para la técnica de Tello, 3% negativas para la técnica de Baerman y positivas para la técnica de Tello y el 97% fueron negativas por ambas técnicas de un total de 100 pacientes. En el estudio de Chávez¹² titulado Diagnóstico de protozoarios intestinales frecuentes en niños. La Plata, Argentina reportó un 50% de rendimiento con la técnica de Tello, 23% con el método directo y 25% con la técnica de flotación. De acuerdo a estos dos estudios, la técnica de Baerman es mucho más efectiva en el diagnóstico de coccidiosis intestinales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Markell E. Parasitología médica, 6ta edición, editorial interamericana, España; 1990.
2. Tello R, Canales M. Técnicas de diagnóstico de enfermedades causadas por enteroparásitos. Diagnóstico 2000; 39: 197-8. Disponible en: <http://www.fihu-diagnostico.org.pe/revista/numeros/2000/julago00/197-198.html>
3. Lumbreras H. Aplicación de la técnica de Baerman modificada en copa para el diagnóstico y control terapéutico; 1990.
4. Leal F. Agentes etiológicos de diarrea aguda en la región las Américas: Federación Colombiana de Especialistas en Laboratorio Clínico (FECODEL); Pp. 2005: 5-55.
5. Es Salud. Boletín Epidemiológico. Bol. EPI N° 02 Lima, Perú; 2012.
6. DIRESA. Comportamiento de las Enfermedades Diarreicas Agudas en las Redes Asistenciales; 2012.
7. Piedrasanta E. Determinación de la influencia de dos detergentes en la recuperación de ooquistes de *Cyclospora cayetanensis* de vegetales y frutas contaminadas experimentalmente en el Laboratorio. [Tesis pregrado] Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2003.
8. Markell E. Parasitología médica, 6ta edición, editorial interamericana, España; 1990.
9. Córdova M, Del coco V, Basualdo J. Comparación de tres técnicas de concentración de heces para recuperar ooquistes de *Cryptosporidium*. Revista online. 2008; 42 (3): 333-7.
10. Cuevas C. Validez y fiabilidad de las medidas de exposición y medición. Universidad Nacional Autónoma de México; 2010.
11. Pajuelo G, Luján D, Paredes B, Tello R. Aplicación de la técnica de sedimentación espontánea en tubo en el diagnóstico de parásitos intestinales". Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú. Rev Biomed 2006; 17:96-101.
12. Chávez E. Diagnóstico de protozoarios intestinales frecuentes en niños. La Plata, Argentina. Rev Panam Infectol 2003;10(1):24-29