

Evaluación del equipo FE-5 vs. técnica de Ritchie con muestras fecales de manipuladores de alimentos en cinco ciudades del país

Ibeth Paola Garzón Gordillo¹, Astrid Carolina Flórez Sánchez¹,
Orlando Ruda Hernández², Omar Andres Reyes Torres²

1. Instituto Nacional de Salud. Laboratorio de Parasitología
2. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Correspondencia: garzon59@hotmail.com

Recibido: 23-08-09 / Aceptado: 02-12-09

Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar la efectividad del equipo Diasys FE-5, instrumento que sirve como nueva técnica de concentración de parásitos intestinales, que facilita la preparación, centrifugación, concentración y montaje de las muestras para su lectura. Está compuesto de un sistema de Mini Parasep que optimiza la recuperación y concentración de quistes, huevos y larvas en comparación con la técnica tradicional de Ritchie modificada (formol – éter). Se examinaron 764 muestras de materia fecal, procedentes de manipuladores de alimentos de cinco ciudades del país.

Las muestras fueron simultáneamente procesadas y analizadas mediante la técnica de Ritchie y el equipo Diasys FE-5. Las dos técnicas permitieron el hallazgo parasitológico de protozoos y helmintos, con una concordancia de índice de kappa de 0.90, aspecto que permite confirmar que el equipo Diasys FE-5 es una herramienta útil y segura en el laboratorio para el diagnóstico de parasitismo intestinal, obteniendo como beneficios la disminución de costos, reactivos, tiempo, y lo más importante, bioseguridad para el profesional y mejoramiento del diagnóstico parasitológico.

Palabras clave: bioseguridad, diagnóstico parasitológico, parásitos intestinales, protozoos.

Abstract

Evaluation of FE-5 team Ritchie vs. technique faecal samples of food handlers in five Colombian cities

The objective of this study was evaluate the effectiveness of the team DiaSys FE-5 instrument used as a new concentration technique for intestinal parasite analysis that facilitates the preparation, centrifugation, concentration, and mounting of samples for perusal, which is composed of a Mini Parasep system that optimizes the recovery and concentration of cysts, eggs and larvae in comparison to the traditional technique of modified Ritchie (formalin-ether). 764 fecal samples from food handlers were examined in five cities.

The samples were simultaneously processed and analyzed by the technique of Ritchie and the team DiaSys FE-5. Ritchie's technique and equipment DiaSys FE-5 allowed the discovery of protozoa and helminths, parasitology, with a kappa concordance index of 0.90, a factor that indicates that the results were similar. This helps to confirm that the computer DiaSys FE-5 is a useful and safe tool in the laboratory for the diagnosis of intestinal parasites, obtaining lower cost benefits, reagents, time and most importantly for the professional bio and improvement of parasitological diagnosis.

Keywords: biosecurity, intestinal parasites, parasitological diagnosis, protozoa.

Introducción

El diagnóstico de los parásitos intestinales es necesario en los países subdesarrollados donde junto a los virus son causa de la mayor parte de las diarreas presentes en la población infantil, lo que conlleva a obtener datos confiables sobre las personas afectadas por parásitos intestinales y así poder intervenir sobre los factores ambientales. Las técnicas altamente confiables no siempre están al alcance de la comunidad, situación que se puede ver como una limitación; sin embargo es de vital importancia realizar diagnósticos con bajo índice de falsos negativos y que ayuden al mejoramiento del estado de salud de la población afectada (1,2). En la mayoría de los casos el diagnóstico de parásitos intestinales se hace mediante montaje directo en fresco de la muestra de materia fecal, siendo ésta una técnica accesible y de bajo costo en comparación con otras técnicas utilizadas en otros países (3).

El examen directo es en nuestro medio una técnica de bajo costo, pero en muchas ocasiones para poder obtener un diagnóstico seguro es necesario experticia en el examen microscópico y además un seriado mínimo de tres muestras de materia fecal para el análisis y la lectura, teniendo en cuenta que la eliminación de los parásitos en materia fecal es intermitente en el hospedero. Esta situación justifica la búsqueda de métodos más sensibles (4).

En muchos laboratorios del país se ha implementado la técnica de Ritchie modificada (formol-éter), método de concentración que permite aumentar la probabilidad de identificar quistes, huevos y larvas de parásitos como complemento al examen directo y que requiere como

componente la utilización de éter, reactivo que en muchas oportunidades es de difícil adquisición, además de ser considerado de gran toxicidad para el organismo. Esto ha llevado a algunos laboratorios a sustituir el éter por el sistema innovador de Mini Parasep del Equipo Diasys FE - 5 que optimiza la recuperación y concentración de quistes, huevos y larvas y solo requiere de reactivos como solución salina fisiológica y solución de lugol para la preparación, centrifugación y montaje de las muestras de materia fecal.

Las técnicas automatizadas para el estudio e identificación de parásitos intestinales en una población han tenido aceptación en las diferentes entidades de salud, ya que contribuyen a disminuir el tiempo de procesamiento que incide directamente sobre el costo del diagnóstico de las muestras (4). El DIASYS FE-5 es un equipo usado para el análisis parasitológico de muestras de materia fecal, que permite, gracias al sistema de tubos, examinar múltiples muestras en un menor tiempo en comparación con otros métodos. Sin embargo, su utilidad y funcionamiento no habían sido evaluados plenamente en nuestro país, por lo tanto el objetivo principal de este estudio es evidenciar su operatividad, calidad del proceso, confiabilidad de resultados y la optimización del trabajo para su empleo como herramienta de diagnóstico en el laboratorio.

Actualmente once entidades hospitalarias de la ciudad de Bogotá D.C. y seis en la ciudad de Manizales han adquirido el equipo, sin contar con un estudio previo de evaluación. Por lo tanto, es importante evaluar su funcionalidad y sensibilidad respecto a las técnicas convencionales

de concentración como la de Ritchie, para lo cual se logró obtener muestras de materia fecal necesarias para el estudio de la sensibilidad del equipo y así poder establecer la concordancia con la técnica tradicional de concentración de formol éter ó Ritchie.

Los resultados obtenidos con la evaluación del Equipo DIASYS – FE5 en comparación con la técnica convencional de Ritchie, permitirán contribuir al mejoramiento de la calidad del diagnóstico de parásitos intestinales en el laboratorio clínico y así favorecer las medidas de prevención que conlleven a la disminución de la morbi mortalidad por estos microorganismos en la población de nuestro país (5).

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal. Se recolectaron durante el año 2008, 764 muestras de materia fecal a partir de manipuladores de alimentos de establecimientos dedicados al expendio de alimentos al público, procedentes de las ciudades de Leticia, Armenia, Neiva, Santa Marta y Cali, las cuales fueron inicialmente conservadas en formol al 5% y luego enviadas al laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Salud (INS), donde se procesaron y analizaron de acuerdo a las indicaciones de las técnicas de Ritchie (2) y del equipo Diasys FE-5 (6).

Se hizo necesaria la verificación de campos microscópicos con objetivo de 10X para la observación en lámina portaobjetos y la minilla cubreobjetos de 22 x 22 mm usadas en la técnica de Ritchie y en la cámara de lectura del equipo Diasys FE-5 para poder ajustar mediante las dos técnicas, una cantidad similar de muestra de materia fecal a observar por parte de los analistas microscopistas. Los datos recolectados

fueron consignados y analizados en una base de datos diseñada en el programa de Epi-Info, versión 6.04.

Resultados

Se realizó la respectiva verificación de campos microscópicos con objetivo de 10X, obteniendo como resultado con la técnica de Ritchie una lectura de 750 campos microscópicos sobre la laminilla de 22 x 22 mm en la cual se realiza la lectura y sobre la cámara del equipo Diasys FE-5 una lectura de 630 campos microscópicos. Sin embargo, a pesar que se evidenció una diferencia mayor en el número de campos microscópicos con la técnica de Ritchie, la cámara del equipo Diasys FE-5 cuenta con un mayor espesor para el análisis de la muestra. Las muestras de materia fecal fueron evaluadas por 2 analistas microscopistas que contaban con la misma experticia, de forma simultánea con cada una de las técnicas, bajo las mismas condiciones de conservación, temperatura, montaje, lectura y tiempo. La distribución de las 764 muestras de materia fecal procedentes de las cinco ciudades se muestra en la Tabla 1.

Las muestras procesadas por la técnica de Ritchie tomaron un tiempo de 7 minutos en su preparación desde el marcaje del tubo hasta el proceso de centrifugación y en el equipo Diasys FE-5 tomaron un tiempo de 2 minutos. Durante todo el proceso por la técnica de Ritchie el analista mantuvo contacto directo con la muestra de materia fecal, la cual fue filtrada manualmente mediante una gasa para descartar todo tipo de partículas mayores ó detritos fecales, según protocolo de la técnica (2). Con el sistema Mini Parasep del equipo Diasys FE-5, la muestra de materia fecal fue preparada sin contacto directo con el analista, tomando la cantidad necesaria

Tabla 1. Distribución por ciudades de muestras de materia fecal de manipuladores de alimentos.

CIUDAD	Muestras de materia fecal (N)	%
Leticia	87	11,4
Armenia	141	18,5
Neiva	148	19,4
Santa Marta	188	24,6
Cali	200	26,2
TOTAL	764	100

Tabla 2. Parásitos intestinales identificados en 764 muestras de materia fecal de los manipuladores de alimentos de 5 ciudades del país, analizadas por la técnica de Ritchie y la técnica del Equipo Diasys FE – 5.

TIPO DE PARASITO	Técnica de Ritchie Muestras (n)	Técnica del Equipo Diasys FE-5 Muestras (n)
Complejo <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i>	120	124
<i>Entamoeba coli</i>	144	130
<i>Endolimax nana</i>	259	246
<i>Entamoeba hartmanni</i>	45	41
<i>I. butschilli</i>	55	47
<i>Giardia duodenalis</i>	20	22
Áscaris lumbricoides	12	8
Uncinarias	5	3
<i>Trichuris trichuira</i>	5	1
<i>Mixobolus</i>	4	2
<i>B. hominis</i>	35	28

para la paleta que incluye el sistema. De las 764 muestras analizadas por cada una de las dos técnicas se identificaron un número determinado de parásitos que constituyó la variable para realizar la evaluación de la concordancia entre las dos técnicas, Tabla 2.

Para efectos de la evaluación de la concordancia entre las dos técnicas se tuvo en cuenta el alto grado de poli parasitismo intestinal observado en las muestras de materia fecal. El índice de kappa hallado para evaluar concordancia entre las dos técnicas fue de 0.899.

Discusión

En el laboratorio la sensibilidad de los equipos y las técnicas es uno de los aspectos más importantes en el diagnóstico de las enfermedades. Por ello, los estudios que buscan implementar nuevos sistemas de apoyo o de evaluación se ven obligados a comparar los procedimientos y resultados obtenidos con las diferentes observaciones (7).

En la actualidad, el diagnóstico de parásitos intestinales en la población colombiana en el laboratorio clínico se hace mediante el análisis coprológico, un montaje directo de la muestra de materia fecal en fresco que resulta fácil, requiere de poco tiempo y representa un costo mínimo. Otro método es el de concentración formol-éter (técnica de Ritchie), técnica más sensible, ya que concentra los parásitos y aumenta la posibilidad de observarlos

en el momento del diagnóstico microscópico. Sin embargo, por el tiempo requerido para el análisis e inclusive por el costo y restricción del éter, no se ha implementando de rutina en los laboratorios clínicos del país (8).

Algunas variables de difícil control con el uso del Equipo Diasys FE-5, probablemente constituyen factores determinantes en el diagnóstico parasitológico, tales como el espesor de la muestra contenida en la cámara del equipo que influye directamente en la observación microscópica, a diferencia

del montaje convencional en lámina portaobjeto y laminilla utilizadas en la técnica de Ritchie, variable que se logró controlar con el uso de microscopios con fuente de luz blanca, que mejoran ostensiblemente la observación microscópica permitiendo definir las características morfológicas de los parásitos presentes en las muestras procesadas.

En el procesamiento y análisis de las muestras de materia fecal, la cantidad y la consistencia juegan un papel importante, pues de estos aspectos depende la veracidad y la eficiencia de la detección de parásitos intestinales. Una muestra de consistencia muy dura es más difícil de procesar y filtrar por las técnicas de Ritchie y del equipo Diasys FE-5, así como una muestra de consistencia muy diluida o acuosa resulta igualmente muy dispendiosa, ya que al realizar la preparación del montaje tanto manualmente con la técnica de Ritchie como con el equipo Diasys FE-5, se puede llegar a tomar una cantidad menor a la recomendada, que puede llegar a ocasionar falsos negativos en la lectura.

Otra variable a considerar constituye el hecho de realizar el diagnóstico en muestras de materia fecal frescas que no sean sometidas a conservación con formol al 5% u otros conservantes, a menos que sea indispensable este procedimiento. En general, se puede afirmar que existen variables que si no son controladas oportunamente durante el proceso, probablemente afectarán la calidad del diagnóstico parasitológico (9).

La calidad del análisis con el equipo Diasys FE-5 parece ser dependiente de muchos más factores que los relacionados con la utilización de la técnica de Ritchie. Uno de ellos es el espesor de la muestra analizada, ya que la cámara del equipo Diasys FE-5 cuenta con un mayor espacio que la preparación entre lamina y laminilla del método directo de Ritchie, lo que significa una mayor cantidad de muestra por campo observado. Sin embargo, en este estudio se realizó el control del número de campos microscópicos visualizados mediante las dos técnicas evaluadas, obteniendo unas condiciones similares, las cuales permitieron dar resultados confiables.

Es importante resaltar que el diagnóstico parasitológico realizado mediante la técnica de Ritchie fue mayor, evidenciándose la presencia de un número más alto de parásitos comparado con el realizado con el equipo Diasys FE-5. Sin embargo, el equipo puede ser empleado como una herramienta más para el diagnóstico de parasitismo intestinal, pues a través de él se logró la visualización de todos los parásitos observados también mediante la técnica de Ritchie, con una alta concordancia de un índice de kappa de 0.899.

www.unicolmayor.edu.co

Finalmente, consideramos que esta evaluación era necesaria desarrollarla, ya que el equipo Diasys FE-5 está comercializado en nuestro país y no existían evidencias de su efectividad operativa en el diagnóstico parasitológico. Los resultados obtenidos en este estudio comparativo permiten considerar una herramienta más de diagnóstico disponible para los laboratorios clínicos de cualquier nivel.

Referencias

1. Castro A, Guerrero O. Técnicas de diagnóstico parasitológico. 2a ed. Costa Rica: Editorial Universidad De Costa Rica; 2006.
2. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas 4a ed. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2003.
3. Navarro P, López A, Hernández A, Jiménez L, Reyes H. Diarreas parasitarias: epidemiología y clínica de casos representativos. Rev Fund José María Vargas. 1990;14:13-16.
4. Pardo M, Valdés Y, González M, Jiménez A, Santesteban A, Gispert F. Utilización de la Técnica de Ritchie Modificada en el Diagnóstico de Protozoos. http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol7_01_01/articulos/a6_v7_0101.html.
5. Bellmunt-Montoya S. Validación de pruebas diagnósticas. Angiología 2007; 59:433-438.
6. Rochem Biocare. Manual de instrucción y mantenimiento del equipo Diasys FE-5.
7. Molinero L. Medidas de concordancia para variables cualitativas. Asociación De La Sociedad Española De Hipertensión. 2001.
8. Salvalleta R, Eiralé C. Examen coproparasitario: metodología y empleo. Revisión técnico metodológica. Rev Med Uruguay 1996;12:215-223.
9. Devera R., Blanco Y., Requena., Velásquez V. Diagnóstico de Blastocystis hominis bajo rendimiento de los métodos de concentración de forol-éter y sedimentación espontánea. Rev Biomed 2006; 17(3):231-233.