

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Dinámica para la identificación de las formas parasitarias microscópicas de los geohelminths intestinales

Dynamics for the Identification of Microscopic Parasitic Forms of Intestinal Geohelminths

Autores: Dra. Rebeca Margarita Laird Pérez*, Dr. Alexander Morales Fontaine**.

* Especialista de II Grado en Microbiología. Máster en Enfermedades Infecciosas. Profesora Auxiliar. Investigadora Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas, Las Tunas.

** Residente de primer año de Anatomía Patológica. Instructor no graduado de Microbiología. Hospital “Ernesto Guevara de la Serna”, Las Tunas.

Correspondencia a:

Dra. Rebeca Margarita Laird Pérez

E-mail: rebecam@ltu.sld.cu

RESUMEN

Las estadísticas sobre geohelminths intestinales, a partir del examen parasitológico de las heces, constituye la espina dorsal de los programas para el control de estos gusanos, pues a partir de ellas se obtiene información útil para la toma de decisiones; no obstante, existen insuficiencias cognoscitivas y en las habilidades para la identificación de formas microscópicas de geohelminths por parte del personal del laboratorio, así como deficiencias didácticas en el abordaje bibliográfico sobre aspectos de interés para la identificación parasitaria, lo cual contribuye al reporte de errores en el laboratorio. Con vistas a contribuir al mejor diagnóstico de estos agentes parasitarios se elaboró el presente artículo, en el período de enero a marzo de 2013. Se realizó una amplia revisión bibliográfica y se diseñó una dinámica de identificación con énfasis en los detalles morfo-biológicos. Se concluye en la importancia del estudio del número y características de las cubiertas y contenido ovular en los inconvenientes de reportar las especies del género *Trichuris*, si no se emplean oculares

micrométricos, en la utilidad de considerar la posible presencia de especies antropozoonóticas y de realizar el diagnóstico diferencial con los huevos y las larvas de otros helmintos presentes en las heces, con los que se comparten similitudes morfológicas.

Palabras clave: GEOHELMINTOS INTESTINALES, CALIDAD DEL DIAGNÓSTICO

Descriptores: PARASITOSIS INTESTINALES; HELMINTIASIS/diagnóstico.

SUMMARY

Statistics about intestinal helminths from the parasitological examination of the feces constitutes the keystone of the programs for the control of those worms since from them useful information is obtained to take a decision. However, there are cognitive and skill deficiencies to identify the microscopic forms of geo-helminths by the laboratory personnel, as well as didactic deficiencies when using the technical literature in important aspects for parasite identification. This situation leads to errors in the laboratory work. In order to contribute to a better diagnosis of these parasitic agents, this article was developed from January to March, 2013. A deep bibliographical review was carried out and a dynamic pattern of identification was designed, making emphasis on morpho-biological details. Conclusions showed the importance to study the number and characteristics of the egg cover and content, and the inconveniences of reporting the *Trichuris* species if ocular micrometers are not used. The study also revealed the profits of considering the possible presence of anthropozoonotic species and to perform the differential diagnosis with eggs and larvae of other helminths of the feces, which have morphological similarities.

Key words: INTESTINAL GEO-HELMINTHS, DIAGNOSIS QUALITY.

Descriptors: INTESTINAL DISEASES, PARASITIC; HELMINTHIASIS/diagnosis.

INTRODUCCIÓN

Los geohelmintos intestinales conforman un grupo variado de gusanos, que utilizan al hombre y a los animales como sus reservorios definitivos, donde pueden realizar infecciones cruzadas. (1-4) En las heces de los parasitados se encuentran formas microscópicas (huevos y larvas) de diferentes especies, cuya morfología, tamaño y biología facilitan su diagnóstico.

El diagnóstico de certeza de estas formas microscópicas se sustenta en el examen parasitológico del material fecal por técnicas de laboratorio, como Willis-Malloy modificada,

Ritchie, el método cuantitativo de Kato Katz y el cultivo de larvas por Harada Moris, entre otras. (5)

Este examen parasitológico de las heces constituye la espina dorsal de los Programas de control, pues a partir de sus resultados se obtiene información de línea base, útil para la toma de decisiones. En consecuencia, el personal relacionado con este diagnóstico deberá poseer habilidades cognitivas y prácticas para asegurar la confiabilidad de los resultados.

En contraste, los resultados de estudios realizados en Cuba sobre la calidad del diagnóstico coproparasitológico (6,7) y del contenido duodenal (8) muestran fallas en el diagnóstico de los geohelminintos intestinales *Strongyloides stercoralis* y los ancylostomídeos y desconocimiento generalizado de las especies antropozoonóticas. (9) En otro sentido, al valorar los contenidos de los manuales de procedimientos técnicos del laboratorio de Parasitología (5) y de la bibliografía básica, (10) utilizada para la formación de los profesionales y técnicos relacionados con este diagnóstico, se observa un énfasis marcado en la descripción de las marchas técnicas y en los fundamentos y aplicaciones de las mismas, pero es insuficiente el uso de ilustraciones de las formas parasitarias, no existe un abordaje didáctico de los detalles útiles para su identificación y tampoco se incluyen las especies antropozoonóticas.

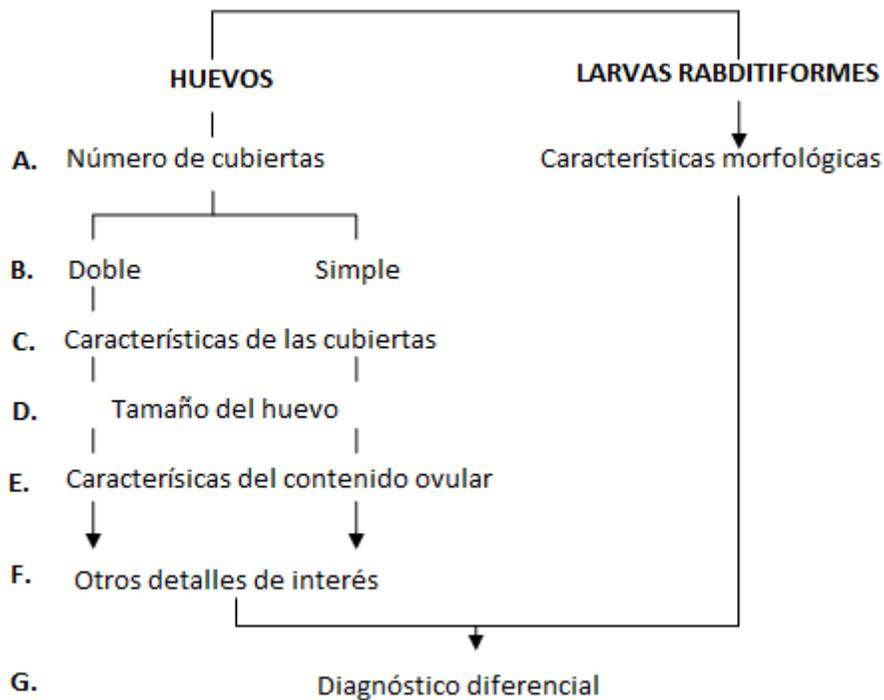
Con vistas a contribuir al mejor diagnóstico de las formas evolutivas microscópicas de los geohelminintos intestinales, en el presente artículo se ofrece una dinámica de identificación que contempla el análisis de las principales características morfo-biológicas, así como aspectos epidemiológicos y del diagnóstico diferencial.

DESARROLLO

Cuando se realiza el examen parasitológico de las heces en busca de formas microscópicas de geohelminintos intestinales, uno de los aspectos importantes a considerar es el tiempo de emisión de esta muestra biológica. Si se trata de heces frescas, en la mayoría de los casos se buscan huevos con determinado desarrollo del contenido ovular. Se exceptúa la infección por *Strongyloides stercoralis*, especie que de acuerdo a su biología, asegura la presencia de larvas rabbitiformes en las heces. (11)

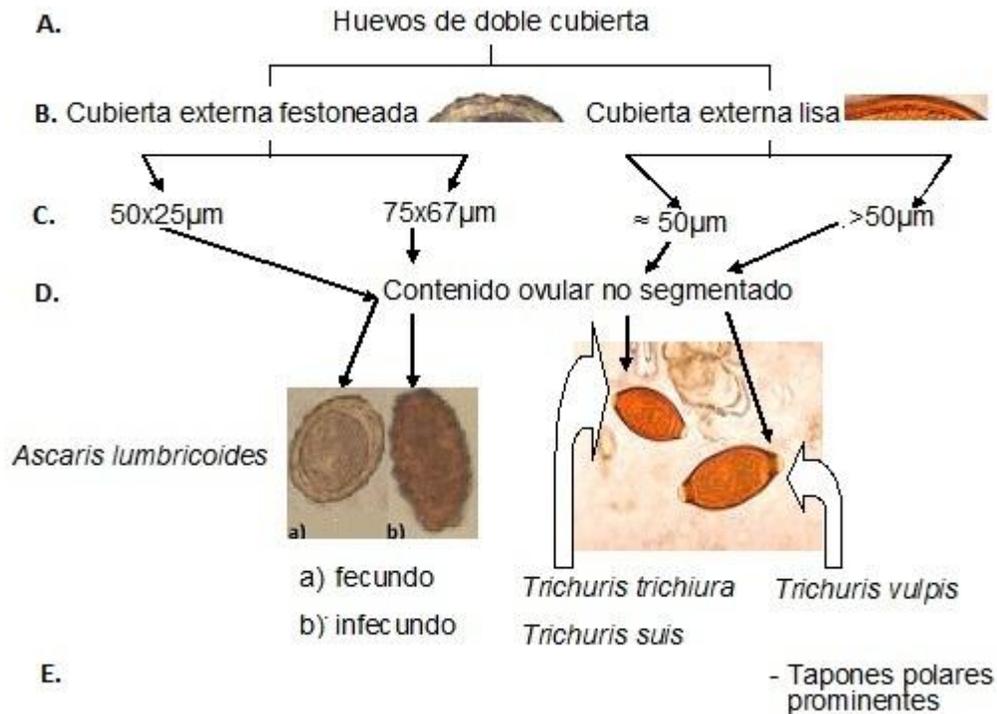
En los párrafos siguientes se analiza la identificación de los huevos y larvas rabadiformes de especies de geohelminths intestinales, observados en las heces frescas (momento ideal para su procesamiento), de acuerdo a la dinámica que se expone en la **figura 1**.

FIGURA 1. Dinámica para la identificación de huevos y larvas de geohelminths intestinales a partir del examen parasicológico de heces frescas



Cuando se analiza la dinámica de identificación de los huevos de doble cubierta, **figura 2**, se observa que las especies de interés están incluidas en los géneros *Ascaris* y *Trichuris*.

FIGURA 2. Dinámica para la identificación de huevos de doble cubierta



Del género *Ascaris*, la especie *lumbricoides*, propia del hombre, es la única que ordinariamente desarrolla formas adultas en el intestino humano con capacidad para reproducirse y eliminar huevos en las heces. (1) Esta característica, unida al distintivo festón que dibuja la cubierta externa ovular, contribuye a su correcta identificación. De esta especie se describen también dos tipos de huevos que pueden diferenciarse entre sí por el mayor tamaño y el contenido no delimitado de los huevos infecundos. (12)

De igual modo, *Trichuris* cuenta con las mejores estadísticas de identificación, reportadas en los controles de calidad del diagnóstico coproparasitológico realizados en Cuba (6,7,9) pero, existen dificultades con el informe de las especies. (9) En este sentido, el género *Trichuris* además de la especie humana (*T. trichiura*), incluye a otras especies propias de diversos animales, (13) de las cuales se ha documentado (14, 15) la importancia sanitaria para el hombre de *T. suis* del cerdo y *T. vulpis* del perro. Los huevos de estas especies son morfológicamente similares entre sí, pero desiguales en sus longitudes, biología, genética y carácter patógeno, de ahí la importancia de profundizar en los aspectos diferenciales.

De *T. trichiura* se reconocen dos variedades de huevos: una de menor tamaño, con dimensiones entre 50-56µm x 21-26µm y otra mayor, de 78 x 30µm. (16) Existen algunas circunstancias en las que se producen aumentos mínimos de estos huevos, como sucede

después del tratamiento con mebendazol, (17) al igual que cuando los huevos se someten a la acción del glicerol del frotis de Kato Katz. (12) En este frotis los huevos aparecen hinchados, de mayor tamaño con el contenido degenerado.

Sobre *T. suis*, no se refieren diferencias morfométricas con su homólogo humano y algunos helmintólogos consideran que se trata de la misma especie. No obstante, algunas evidencias demuestran que son especies muy relacionadas, pero diferentes en el orden biológico (el período prepatente y tiempo para que los huevos alcancen el estadio infectante es menor en los cerdos), genético (el oocito de *T. trichiura* tiene cuatro cromosomas diploides versus seis el de *T. suis* y las secuencias ITS1 e ITS2 del ADN ribosomal son diferentes entre ambas especies) (18) y patológico (ausencia de enfermedad humana por *T. suis* versus colitis y disentería asociada a *T. trichiura*. (19)

Se describen además los huevos de *T. vulpis*, cuyas longitudes (90µm x 44µm; rango de 86-99µm x 38-47µm) (15) superan las de los huevos de mayor tamaño de la especie humana, incluidos aquellos cuyas dimensiones aumentan en las condiciones antes mencionadas.

De modo que la clave para diferenciar los huevos de *T. vulpis* de los de otros trichúridos radica en su medición, pero en la mayoría de los laboratorios de la red nacional de salud cubana no se dispone de oculares micrométricos, ni se han sistematizado las habilidades para su uso. Por otro lado, los procedimientos que permiten avalar las diferencias entre *T. trichiura* y *T. suis* no están al alcance de los laboratorios, ni su implementación se justifica por razones de costo/beneficio.

Por tanto, al considerar las condiciones materiales de los laboratorios de la red nacional, ante la observación de huevos de *Trichuris*, si no se realiza la medición de los mismos, lo más oportuno es el informe del género sin comprometer la especie como lo refieren algunos autores, (15, 20, 21) a diferencia de lo que frecuentemente se reporta en estudios de alcance nacional (22, 23) e internacional. (24, 25)

En otra dirección, el estudio de la dinámica de identificación de los huevos de simple cubierta, **figura 3**, muestra que ellos comparten similitudes morfológicas y que son varios los géneros involucrados. Los huevos de las especies propias del hombre, *Necator americanus* y *Ancylostoma duodenale*, al compartir similitudes morfológicas se incluyen en el grupo de los ancylostomídeos. A ellos habrá que diferenciarlos de los huevos de otros ancylostomídeos propios del perro y del gato (*Ancylostoma caninum* y *Ancylostoma ceylanicum*) y de los de

otros gusanos antropozoonóticos, que pueden completar sus ciclo biológico en el intestino humano y ubicar huevos en las heces. (26) Para su diferenciación, algunas características, como el tamaño, la segmentación del contenido ovular y otros detalles, contribuyen a establecer el diagnóstico.

Con respecto al tamaño, los inconvenientes de la medición fueron comentados en párrafos anteriores pero, en el caso de la infección por *Nematodirus abnormalis*, especie identificada en el hombre, (27) puede prescindirse de este proceder toda vez que las dimensiones de sus huevos (130-260µm x 67-121µm) supera en dos a tres veces el tamaño de los restantes.

Al referir las características del contenido ovular, los huevos de los ancylostomídeos son los que tienen menor segmentación, la cual no rebasa las seis células o metámeras. Esta característica permite diferenciar a estos gusanos de los que pertenecen a los géneros *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Oesophagostomun* y *Ternidens*, que tienen un desarrollo intraovular más avanzado. Para todos ellos, otros detalles morfológicos referidos en la figura contribuyen al diagnóstico, pero, en la mayoría de los casos, no son suficientes. Por eso se recomienda obtener larvas filariformes a través de procedimientos de cultivos de heces como el Harada Moris, y entonces se podrá llegar al diagnóstico de especie previa consulta de las claves de identificación. (5)

La mayor segmentación intraovular, apreciable por la observación microscópica de movimientos larvarios activos, la muestra los huevos de *Strongyloides fulleborni*. Para el diagnóstico de esta especie es oportuno considerar la procedencia del paciente, ya que la infección humana por este gusano ha sido reportada mayoritariamente en países del continente africano y pocos casos en Brazil. (1)

FIGURA 3. Dinámica para la identificación de huevos cubierta simple

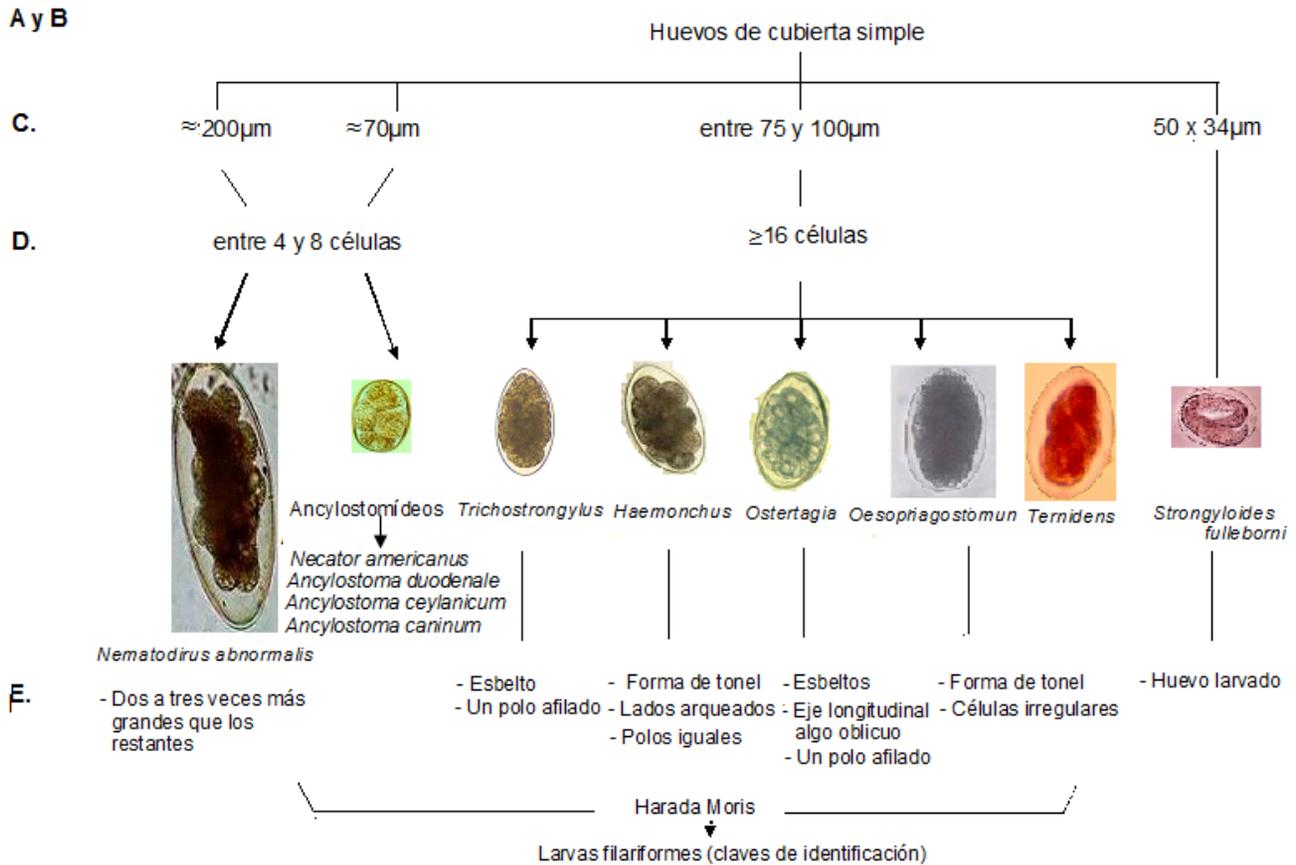


FIGURA 4. Características de las larvas rabbitiformes de *Strongyloides stercoralis*

En la **figura 4** se presentan las características morfológicas de las larvas rabbitiformes de *Strongyloides stercoralis*.

- A.**
- Longitud: entre 180 - 300 μm
 - Cápsula bucal corta
 - Muy móvil
 - Primordio genital prominente, en forma de medialuna (flecha)



De los detalles referidos en esta figura, los dos últimos tienen mayor valor práctico, ya que no dependen de la medición. La gran movilidad de las larvas revela rápidamente su presencia en el campo microscópico, cuando se utilizan soluciones de trabajo vitales, como la solución salina isotónica y la eosina. En nuestros laboratorios, es frecuente que se emplee el lugol como solución de trabajo, la cual inmoviliza la larva, pero dibuja sus detalles internos. En

estas condiciones es posible observar con claridad el característico primordio genital, que contribuye a su diagnóstico.

Si con estos detalles persisten las dudas en la identificación de especie, resulta útil obtener mediante métodos de cultivo la larva filariforme. Esta larva es fácilmente diferenciable de las de otros geohelminos intestinales citados, por la ausencia de vaina y por el aspecto bifurcado de su cola.

Como el examen parasitológico de las heces no es exclusivo de los geohelminos intestinales, cuando se aborda el diagnóstico diferencial es necesario tener en cuenta las características morfológicas de huevos y larvas de otras especies de helmintos intestinales y tisulares, que pueden diagnosticarse por el examen microscópico del material fecal.

De las especies de geohelminos con huevos de doble cubierta, la experiencia cubana a través de los controles de calidad documentan (6, 7) los cambios diagnósticos de los huevos fecundos de *A. lumbricoides* que pierden la cubierta externa por los de *Taenia sp.* y los infecundos de *Ascaris* (12) por los de *Fasciola hepatica*. En el primer caso, debe prestarse atención a que la cubierta externa de los huevos de *Taenia* es lisa y radiada y el contenido ovular lo constituye un embrión con seis ganchos. En el segundo, el huevo de *F. hepatica* es casi dos veces el tamaño del infecundo de *Ascaris*, su cubierta es simple y lisa y lo tipifica un pequeño opérculo en uno de sus extremos.

En cuanto a los huevos de trichúridos, no se reportan errores en la identificación del género, no obstante, debe valorarse la similitud que tienen con los de otra especie integrante de la misma familia Trichuridae: *Capillaria philippinensis*, agente causal de la capillariosis intestinal humana. Aunque esta especie no es un geohelminto, la localización intestinal de los gusanos adultos asegura la presencia en las heces, de huevos con doble cubierta y tapones en ambos extremos. Para su diferenciación deben considerarse el aspecto morfológico del huevo de *Capillaria*, el cual muestra polos menos agudos, la posible presencia simultánea de huevos y larvas del parásito, la mayor frecuencia de infección en países asiáticos como Filipinas y Tailandia, así como el antecedente de consumir pescado crudo o insuficientemente cocinado, su principal fuente de infección. (28) El **cuadro 1** resume los aspectos de interés del diagnóstico diferencial de los huevos de doble cubierta.

CUADRO 1. Aspectos morfológicos útiles para realizar el diagnóstico diferencial de los huevos de doble cubierta de geohelmintos intestinales

Geohelmintos intestinales	Cambio diagnóstico	Características diferenciales
Huevo fecundo de <i>Ascaris lumbricoides</i> sin cubierta externa 	Huevo de <i>Taenia sp</i> 	Contenido: embrión hexacanto Cubierta externa lisa y radiada
Huevo infecundo de <i>A. lumbricoides</i> 	Huevo de <i>Fasciola hepatica</i> 	Opérculo pequeño Mayor tamaño Cubierta simple lisa
Huevo de <i>Trichuris spp.</i> 	Huevo de <i>Capillaria philippinensis</i> 	Polos menos agudos

En relación con el diagnóstico diferencial de los huevos de cubierta simple, el desconocimiento mayoritario de las especies antropozoonóticas reducen al mínimo los cambios diagnósticos entre ellas. Los desaciertos documentados (6,8,9) se relacionan con deficiencias en la calidad del informe, al comprometer la infección por *Necator americanus* ó *Ancylostoma duodenale* a partir de la observación microscópica de sus huevos ó el sobrediagnóstico de los mismos.

Las deficiencias del diagnóstico antes comentadas han estado asociadas al personal técnico con sistema rotativo por la sección de Parasitología y con poca experiencia en el diagnóstico coparásitológico, al empleo de soluciones de trabajo incorrectas que oscurecen los detalles morfológicos de interés y a la inexistencia de bancos de muestras docentes, que puedan satisfacer las necesidades de formación del pregrado y de capacitación del postgrado.

CONCLUSIONES

La dinámica de identificación de los geohelminthos intestinales exige un estudio cuidadoso de las características morfo-biológicas de los huevos y las larvas con mayor énfasis en el número y características de las cubiertas y en el aspecto del contenido ovular.

En la identificación parasitaria no debe comprometerse el informe de las especies de trichúridos, si no se utilizan oculares micrométricos y deberá considerarse la posible presencia de especies antropozoonóticas.

Para realizar el diagnóstico diferencial de las formas evolutivas microscópicas de los geohelminthos intestinales deberán considerarse las características de los huevos y larvas de otros helmintos cuyas formas microscópicas presentes en las heces pueden originar errores de identificación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ra ed. Washington: OPS. 2003: 321-324. (Pub Cient Téc, No. 580).
2. Prociv P, Croese J. Human enteric infection with *Ancylostoma caninum*: hookworms reappraised in the light of a "new" zoonosis. Acta Tropica 1996 Sep; 62 (1): 23-44.
3. Watthanakulpanich D, Pongvongsa T, Sanguankiat S, Nuamtanong S, Maipanich W et al. Prevalence and clinical aspects of human *Trichostrongylus colubriformis* infection in Lao PDR. Acta Tropica 2013 Apr; 126 (1):37-42.
4. Areekul P, Putaporntip C, Pattanawong U, Sitthicharoenchai P, Jongwutiwes S. *Trichuris vulpis* and *T. trichiura* infections among schoolchildren of a rural community in northwestern Thailand: the possible role of dogs in disease transmission. Asian Biomed 2010; 4: 49-60.
5. Núñez FA, Cordoví R. Manual de técnicas básicas para el diagnóstico del parasitismo intestinal. La Habana: Instituto de Medicina Tropical, 2004.
6. Laird RM, Del Risco U, Ramírez E. Gallardo J, González C, Crespo F. Estudio de la calidad del diagnóstico coproparasitológico en dos provincias de Cuba. Kasmera.1997: 25(2):155-69.
7. Núñez FA, Finlay CM. Adiestramiento en el diagnóstico de las parasitosis intestinales en la red de laboratorios de Cuba. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2001; 17(3): 719-724.
8. González B, Laird RM, Duménigo B. Evaluación de la calidad del diagnóstico parasitológico del contenido duodenal. Rev Cubana Med 2000; 39(3):155-9

9. Laird RM, Ávila M, Menéndez R, Morales I, Cosme Y. Control de la calidad del diagnóstico coproparasitológico de geohelminthos intestinales en la provincia Las Tunas. Rev Electrónica "Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta" 2013; 38(8).
10. Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL. Microbiología y Parasitología Médicas. Tomo III. Ciudad de La Habana: Ecimed, 2001.
11. Ardiç N. An overview of *Strongyloides stercoralis* and its infections. Mikrobiyol Bul 2009 Jan; 43(1):169-77.
12. Ash LR, Orihel TC, Savioli L. Medios auxiliares para el diagnóstico de las parasitosis intestinales. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1994.
13. Cutillas C, de Rojas M, Ariza C, Ubeda JM, Guevara D. Molecular identification of *Trichuris vulpis* and *Trichuris suis* isolated from different hosts. Parasitol Res, 2007 Jan; 100(2):383-9.
14. Ravasi DF, O'Riain MJ, Davids F, Illing N. Phylogenetic Evidence That Two Distinct *Trichuris* Genotypes Infect both Humans and Non-Human Primates. PLOS ONE 2012 August 7(8) 44187:1-8.
15. Márquez A, García G, Álvarez BE, LP Ávila, Santos I, et al. *Trichuris vulpis* (Froelich, 1789) Infection in a Child: A Case Report. Korean J Parasitol 2012 March 50(1): 69-71,
16. Yoshikawa H, Yamada M, Matsumoto Y, Yoshida Y. Variations in egg size of *Trichuris trichiura*. Parasitol Res. 1989; 75(8):649-54.
17. Wagner ED, Peña Chavarría A. A morphologically altered egg of *Trichuris trichiura* following treatment with mebendazole. Am J Trop Med Hyg 1974; 23:154-157.
18. Cutillas C, Callejón R, de Rojas M, Tewes B, Ubeda JM, Ariza C, Guevara DC. *Trichuris suis* and *Trichuris trichiura* are different nematode species. Acta Trop 2009 Sep; 111(3):299-307.
19. Azira N MS, Zeehaida M. Severe chronic iron deficiency anaemia secondary to *Trichuris* dysentery syndrome - a case report. Trop Biomed. 2012 Dec;29(4):626-31.
20. Batista O, Martínez R. Intervención comunitaria en las parasitosis intestinales parroquia Santa Bárbara, estado Anzoátegui, 2010. Rev haban cienc méd [revista en la Internet]. 2011 Jun [citado 2013 Abr 05]; 10(2): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2011000200010&lng=es.

21. Ravasi DF, O'Riain MJ, Adams VJ, Appleton CC. A coprological survey of the protozoan and nematode parasites of free-ranging chacma baboons (*Papio ursinus*) in the Southwestern Cape, South Africa. *S Afr J Wildl Res* 2012 42(1):35-44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3957/056.042.0108>
22. Oropesa OL, Quevedo G, Leyva L, Ferra BM, Ferrer IM et al. Intervención educativa sobre parasitismo intestinal en niños de la Escuela Primaria Salvano Velazco, Bocono. *Correo Científico Médico de Holguín* 2010; 14(1). Disponible en: <http://www.cocmed.sld.cu/no141/no141ori04.htm>
23. Pérez G, Redondo G, Fong H, Sacerio M, González O. Prevalencia de parasitismo intestinal en escolares de 6-11 año. *MEDISAN [revista en la Internet]*. 2012 Abr [citado 2013 Abr 05]; 16(4): 551-557. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000400009&lng=es.
24. Chukwuma MC, Ekejindu IM, Agbakoba NR, Ezeagwuna DA, Anaghalu IC, Nwosu DC. The Prevalence and Risk Factors of Geohelminth Infections among Primary School Children in Ebenebe Town, Anambra State, Nigeria. *Middle-East Journal of Scientific Research* 2009;4 (3): 211-215.
25. Manrique FG, Suescún SH. Prevalencia de parasitismo intestinal y situación nutricional en escolares y adolescentes de Tunja. *Rev CES Med* 2011; 25(1):20-30.
26. Yong TS , Lee JH , Sim S , Lee J , Min DY et al. Differential diagnosis of *Trichostrongylus* and hookworm eggs via PCR using ITS-1. Sequence. *Korean J Parasitol* 2007; 745: 69-74.
27. Taherkhani FM, Valadan M, Fashandaki F. First report of human infection with *Nematodirus abnormalis* in Iran. *Bull Societ Francaise de parasit* 1990; 8(suppl 2):892.
28. Saichua P, Nithikathkul C, Keewpitoon N. Human intestinal capillariasis in Thailand. *World J Gastroenterol*. 2008 January 28; 14(4): 506-510.